

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
inéditas



TESIS DOCTORAL

**Estudio de la regeneración nerviosa tras el injerto fresco y
criopreservado en la rata**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Raimundo Gutiérrez Fonseca

Madrid, 2015

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

"ESTUDIO DE LA REGENERACION
NERVIOSA TRAS EL INJERTO
FRESCO Y CRIOPRESERVADO
EN LA RATA".

TESINA DE LICENCIATURA

D. RAIMUNDO GUTIERREZ FONSECA

Septiembre, 1.988.



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5311815253

AGRADECIMIENTOS:

Deseo expresar mi agradecimiento a:

Prof. Dr. D. HIPOLITO DURAN SACRISTAN, Catedrático de Patología y Clínica Quirúrgicas del Hospital Clínico de San Carlos de la Universidad Complutense de Madrid, mi Maestro , por animarme a realizar este trabajo.

Dr. D. JOSE ANTONIO DE PEDRO MORO, sin cuya colaboración este trabajo nunca habría podido ser realizado.

Prof. Dr. D. ARMANDO MARTINEZ MARTINEZ, cuya experiencia en Neuropatología y colaboración han posibilitado la finalización de esta Tesina.

Prof. Dr. D. LUIS LOPEZ- DURAN, colaborador en este trabajo.

A los médicos y residentes de los servicios de Cirugía General y de Traumatología.

A mis compañeros FERNANDO RODRIGUEZ DE FONSECA y JOSE MIGUEL OETTEL DIEZ, por su compañía y ayuda a la hora de realizar esta experimentación.

Por último, pero no menos importante, a Mayte y mis padres por su apoyo constante.

DEDICATORIA:

Deseo dedicar este trabajo a
mi familia: Mayte, mis padres y mi abuela.

INDICE

I.- Introducción	1
- Historia.....	2
- Importancia de la Microcirugía.....	6
- Estructura del nervio periférico.....	8
- " microscópica del nervio periférico.....	9
-Tejido conjuntivo.....	9
-Elementos vasculares.....	13
-Fibras nerviosas.....	15
-Nudos de Ranvier.....	17
- Formación y estructura fina de las vainas de mielina.....	19
- Visión de los nervios en cortes estudiados mediante M/O.....	22
- Degeneración y regeneración de los nervios periféricos.....	24
- Características anatómoquirúrgicas los nervios.....	35
-Variabilidad.....	35
-Abastecimiento sanguíneo.....	43
- Nomenclatura en cirugía del nervio....	44
- Procedimiento quirúrgico.....	46
- Técnica de Millesi.....	50
- Regeneración de los nervios seccionados que se unen por medios quirúrgicos.....	64
- Bases biológicas de los injertos nerviosos autólogos.....	68

- Nutrición de un injerto nervioso.....	69
- Alotrasplante vivo.....	69
- Tipos de injertos nerviosos	
autólogos.....	73
- La rata como animal experimental.....	78
- Anatomía del nervio ciático de la	
rata.....	81
- Objetivos.....	92
II.- MATERIAL Y METODOS.....	94
- Materiales.....	94
-Animal de experimentación....	94
-Material de Microcirugía.....	94
-Material de sutura.....	103
-Instrumental Macroquirúrgico.	110
-Instrumental Microquirúrgico.	112
-Material complementario.....	114
- Métodos.....	118
-Protocolo operatorio.....	118
- " " experimental.....	123
-Técnica quirúrgica.....	124
-Técnicas histológicas.....	138
III.- RESULTADOS.....	142
IV .- DISCUSION.....	183
V .- CONCLUSIONES.....	194
VI .- BIBLIOGRAFIA.....	196

INTRODUCCION

La reparación de grandes defectos en los nervios periféricos tras una lesión traumática es un problema bastante frecuente en la actualidad, que puede resultar muy frustrante para el cirujano. A menudo como consecuencia de un accidente se deja al paciente con una extremidad absolutamente normal desde un punto de vista anatómico, pero sin embargo sin una adecuada función motora y sensorial, al no ser posible la obtención de su correcta inervación.

En la actualidad, las lesiones nerviosas periféricas se están tratando, cuando ello es posible, mediante sutura directa de los extremos seccionados; cuando ello no es posible, se utilizan autoinjertos obtenidos generalmente del nervio sural, que es extraído del propio paciente en el mismo acto quirúrgico de reparación del nervio lesionado. Este método se revela eficaz en el tratamiento de las pequeñas lesiones, pero resulta insuficiente cuando la lesión es muy extensa, pues, como es lógico la cantidad de nervio sural disponible resulta limitada y además deja un déficit neurológico residual en la región inervada por el sural. Así pues, resulta imposible al cirujano el reunir varios nervios teniendo como única fuente los autoinjertos.

Estos inconvenientes han llevado a investigar con interés los posibles modelos de alotrasplante. Dentro de esta línea de investigación, un capítulo de especial interés sería el relacionado con la

inmunosupresión. Existen métodos variados: por una parte la administración de drogas inmunosupresoras (por ejemplo ciclosporina A) y por otra parte mediante pretratamiento del injerto donante para disminuir su antigenicidad.

En los últimos años, tanto estudios experimentales como clínicos se han centrado en el estudio del pre-tratamiento de los aloinjertos con el fin de obtener una menor respuesta de rechazo y así conseguir una mejor regeneración, MACKINNON S.E. 1984 (83) Avances paralelos en la inmunología del trasplante y en general en la clínica de los autoinjertos han proporcionado nuevos estímulos para continuar estudiando la respuesta del alotrasplante nervioso.

HISTORIA

La idea de trasplantar nervios periféricos no es nueva. Ya en 1870, PHILIPPEAUX y VULPIAN (112), llevaron a cabo experimentos en los que trasplantaban el nervio lingual entre dos extremos del nervio hipogloso seccionado. ALBERT en 1878 (6) unió defectos en nervios humanos periféricos mediante trasplantes de nervios.

El posible valor clínico del trasplante de nervios periféricos se puso de manifiesto por experiencias con lesiones nerviosas en la Primera Guerra Mundial, POLLARD, 1973 (115).

Los trabajos experimentales que se llevaron a

cabo a continuación dieron lugar a algun optimismo.

GUTMANN y SANDERS, 1943 (50) y SEDDON y HOLMES, 1944 (131) en experimentos realizados en humanos y animales con homotrasplantes concluyeron que un injerto (trasplante) de 30 mm. de largo es el límite para poder tener viabilidad. Injertos más largos mostraron reacción inflamatoria difusa, dando lugar a una disminución en el aporte sanguíneo y a una consecuente fibrosis. Esta reacción fué atribuida a una reacción inmune por el tejido huesped.

También MEDAWAR en 1944, sugirió que el fallo de un aloinjerto nervioso estaba en relación con el fenómeno de rechazo, MACKINNON, 1986 (80), (81).

Los experimentos clásicos de HUBER 1919, (61), concluyen con que los autoinjertos son el material ideal para el trasplante.

También BALANCE y DUEL en 1.932 y BUNNEL y BOYES, 1939, (27) obtuvieron buenos resultados utilizando autoinjertos. Sin embargo la reparación de grandes defectos causados por algún trauma a menudo necesitan injertos de gran tamaño que no pueden ser suministrados por injertos autógenos; en tales situaciones es necesario emplear aloinjertos nerviosos.

La historia de los alotrasplantes nerviosos humanos hasta la II Guerra Mundial fué un fracaso. Algunos autores estudian en este momento los problemas

que acontecen en el uso de aloinjertos, siendo el rechazo, evidentemente, uno de los mas importantes. DAS GUPTA 1967, (35) demostró, mediante estudios de microscopía electrónica, que el nervio alogénico cuando era trasplantado estaba sujeto a un proceso de rechazo similar a lo que acontece en otros tejidos.

Los intentos de reducir la antigenicidad del nervio donante, llevaron a realizar diferentes manipulaciones sobre el mismo, observándose gran disparidad de criterios según los autores. MARMOR en 1967, (87), (88), (89) y (90), utilizando la rata como animal de experimentación, trata el nervio donante mediante irradiación. Los resultados que se observaron fueron bastante alentadores, pero posteriormente al realizar el experimento en animales de mayor talla (perro y chimpancé), al tener que injertar nervios más largos, los resultados fueron decepcionantes, DUCKER Y HAYES 1970 (39).

Otros autores se inclinan por realizar una predegeneración del nervio. Fué CAJAL en 1928 (28) el primero que sugirió que la predegeneración del nervio antes de su inserción como injerto, podría conllevar a una más efectiva regeneración posterior.

En esta misma línea de pensamiento se encuentra DAS GUPTA, quien en 1967 (35), expuso que era la mielina el principal antígeno en el nervio periférico, por lo tanto, una predegeneración suficiente como para retirar toda la mielina del nervio podría dar

lugar a un aloinjerto de muy baja antigenicidad. Sin embargo, este uso de aloinjertos predegenerados no fue acogido con mucho interés por el resto de los autores interesados en el tema, ya que las mismas objeciones teóricas que se aplican a los aloinjertos frescos también podrían aplicarse a los degenerados.

El uso de drogas inmunosupresoras en el alotrasplante nervioso, fue el segundo paso a evaluar, tras haber realizado el estudio del tratamiento "local" del nervio. La combinación de las dos terapias podría dar lugar a una gran disminución de la respuesta de rechazo.

MARMOR 1967 (86), observó como en nervios alogénicos implantados de forma subcutánea en ratas, existía una marcada disminución en el infiltrado por células redondas cuando se trataba al animal con azatioprina.

Hasta que en 1960, JACOBSON y SUAREZ (66), introdujeron el microscopio para realizar microsuturas vasculares, abriendo por contigüidad un amplio campo en microcirugía nerviosa, los resultados funcionales en restauraciones de nervios periféricos eran desalentadores. Ha sido el gran impulso desarrollado por los medios de magnificación, unido a una sofisticación del instrumental y medios de sutura, lo que junto a un mayor conocimiento de la ultraestructura nerviosa, ha permitido éxitos alentadores en el tratamiento de las lesiones nerviosas. Sin embargo, quedan aún misterios

por descifrar que guardan en su seno la clave del éxito y que en el momento actual impiden que los avances en las reconstrucciones nerviosas, hayan ido parejos a los progresos microvasculares.

Salvando las distancias y considerando los aspectos fisiológicos y bioquímicos íntimos, podemos afirmar que un vaso es un tubo por el que discurre sangre, por el contrario, un nervio es una complejísima estructura. El afrontamiento de los dos extremos seccionados de un vaso, está capacitado para conducir sangre, sin embargo, el afrontamiento de los cabos seccionados de un nervio no permite recuperar la conducción nerviosa. Es necesario conocer detalladamente la anatomía, función y circunstancias particulares de la sección nerviosa, para poder así encarar el problema con ciertas garantías de éxito.

IMPORTANCIA DE LA MICROCIROUGIA

La relevancia actual de la Microcirugía se basa en contemplar esta disciplina especialmente en dos aspectos, por una parte el investigador, al desarrollar con este tipo de técnicas Modelos Experimentales menos costosos que los convencionales, de más sencilla ejecución y practicables en animales de laboratorio que por su tamaño y características, permite realizar un mayor numero de experimentos cubriendo de esta forma exigencias de los tamaños muestrales de los diseños experimentales. En este sentido han tenido una especial importancia los estudios experimentales sobre el tema de

los trasplantes desarrollados en la rata, al poder practicar este tipo de técnicas en grupos de animales controlados desde el punto de vista genético. Otros campos de investigación interesantes han sido la problemática de la derivación porto-cava, los injertos nerviosos, el desarrollo de nuevas técnicas de anastomosis vasculares, por citar algunos ejemplos.

Por otra, en el aspecto asistencial, la Microcirugía ha logrado tener su aplicación en casi todas las especialidades quirúrgicas. A las ya clásicas en el campo de la Otorrinolaringología a nivel de la cirugía del oído o de la laringe, y en el campo de la Oftalmología, especialidad en la que la mayoría de sus técnicas se realizan bajo el microscopio operatorio, se suma la Neurocirugía fundamentalmente en el campo tumoral (tumores de hipófisis, neurinoma del acústico), en los problemas vasculares angiomasos o la cirugía del disco intervertebral o las novedosas aportaciones en el campo de la cirugía de los nervios periféricos. La cirugía plástica la utiliza en los injertos vascularizados o de piel o de músculo. La Traumatología y Ortopedia en el reimplante de miembros, trasplantes de dedos de pie a mano, injertos vascularizados de huesos y en especial costilla y peroné, suturas tendinosas, exéresis tumorales o cirugía de la mano. La Cirugía Cardíaca para la realización de las anastomosis de los pontajes aorto - coronarios, etc., y a partir de aquí rara es la especialidad que no contempla la aplicación de las técnicas microquirúrgicas en alguna de sus facetas.

ESTRUCTURA DEL NERVIO PERIFERICO

El sistema nervioso periférico se encuentra formado por los nervios, los ganglios y las terminaciones nerviosas a nivel de los órganos. Para el estudio de la regeneración nerviosa tras el transplante solo se analizará la morfología del nervio, sin considerar la del ganglio ni la de la terminación del órgano, aún sabiendo que no es posible individualizar sin caer en cierta incorrección metodológica.

1) Nervios: Son estructuras cordonales y ramificadas que se extienden saliendo del cerebro para formar los pares craneales y saliendo de la médula espinal para formar los nervios raquídeos. Cada nervio contiene varias fibras nerviosas aferentes y eferentes entremezcladas. Estos nervios se distribuyen por toda la anatomía y, a veces, se unen formando troncos nerviosos.

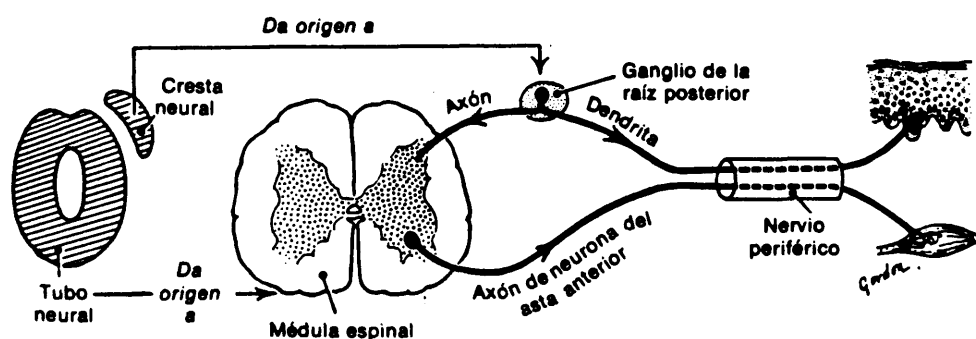
2) Ganglios: Estos pequeños nódulos contienen los cuerpos neuronales. El sistema nervioso periférico tiene dos tipos de ganglios:

- Ganglios cerebro-espinales: que contienen los cuerpos de las neuronas aferentes sensitivas.

- Ganglios vegetativos: que contienen los cuerpos de la segunda neurona eferente vegetativa.

3) Terminaciones nerviosas y órganos sensoriales: Pueden ser motoras como, por ejemplo, la placa neuromuscular o sensitivas como, por ejemplo, los corpúsculos de Krausse y Paccini.

Para nuestro estudio no interesa esta tercera parte, puesto que nos limitaremos a hablar de la neurona y el axón.



-.FIG 1: Esquema de la estructura y distribución del sistema nervioso periférico.

ESTRUCTURA MICROSCOPICA DE NERVIOS PERIFERICOS

COMPONENTES DE TEJIDO CONECTIVO DE LOS NERVIOS PERIFERICOS.

Los nervios periféricos que se encuentran con la disección macroscópica son cordones relativamente resistentes. Esto depende de que los nervios tienen un componente de tejido conectivo bastante importante.

El tejido conectivo del nervio periférico está

más o menos dispuesto constituyendo tubos de tres órdenes diferentes.

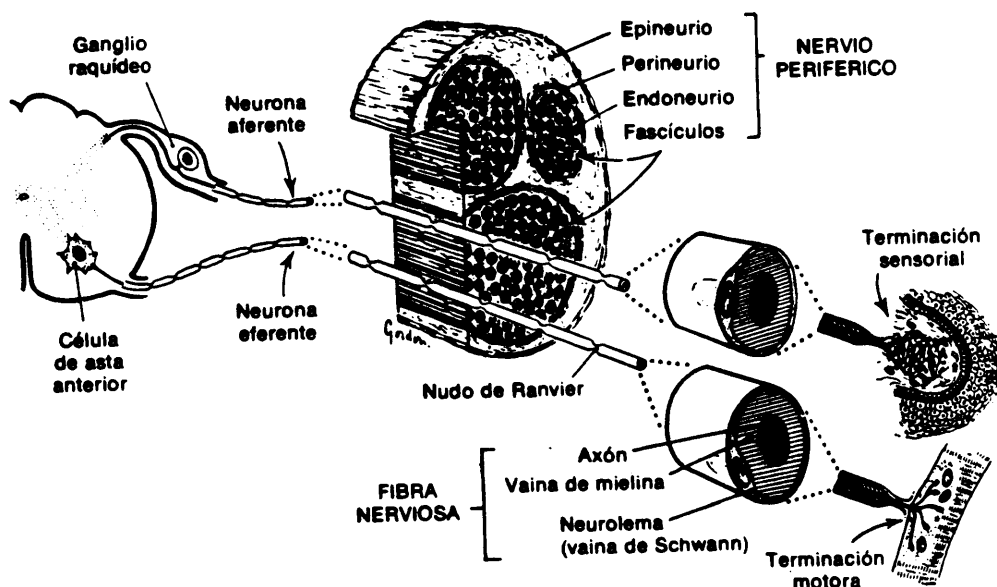


FIG 2: Representación esquemática de la estructura conectiva de un nervio.

En cortes transversales de un nervio periférico de gran calibre hay una disposición de tejido conectivo en forma aproximadamente tubular que incluye todo el nervio, y recibe el nombre de epineuro. El epineuro, considerado clásicamente como la capa mas externa que protege e individualiza la sustancia noble, está formada por haces de colágena y fibroblastos junto a escasas fibras elásticas

La pared del tubo del epineuro no es muy gruesa ni resistente, por lo que no es infrecuente que se rompa al intentar la sutura epineural, así pues, no suele ser tan resistente como las paredes de tamaño

siguiente de los tubos de tejido conectivo en su interior. Los tubos menores tienen paredes de tejido conectivo relativamente denso. Este es el llamado perineurio. El perineuro, representa la membrana que rodea cada fascículo de un nervio periférico. Orientado circularmente, está formado por 7 ú 8 capas concéntricas de células aplanadas y fibras colágenas de 400 a 800 Å de diámetro, orientadas longitudinalmente, con formaciones fibroelásticas situadas en las capas intermedias, BONNEL, 1982 (20) Esta estructura recubre el sistema nervioso periférico por completo, desde la raíz espinal, donde se continúa con la piamadre, hasta las terminaciones nerviosas distales, según describen ROSS, 1969 (119); SHANTHAVEERAPPA, 1969 (134) y JABALEY, 1976 (65), tras realizar estudios sobre el perineurio de diversas especies animales.

En las terminaciones sensitivas, el perineuro se fusiona con la cubierta que envuelve el órgano terminal; mientras que en las motoras, presenta una apertura por la que la sustancia endoneural contacta con la placa motora.

Muchos autores aceptan que este epitelio perineural tiene origen en las leptomeninges, y que se extiende hacia las terminaciones de las fibras nerviosas.

Las células perineurales, de forma aplanada, tienen una relativa exigüidad de órganos citoplasmáticos, pero una gran riqueza en vesículas

pinocitóticas. Se encuentran recubiertas en sus dos caras por una membrana basal que establece relaciones herméticas entre ellas.

Cada tubo de perineurio contiene un número elevado de fibras nerviosas, cada uno de los cuales está encerrado en un tubo delicado de tejido conectivo denominado endoneurio ó también llamado sustancia endoneural, compuesta por fibroblastos endoneurales, fibras de colágena, fibras mielínicas y fibras amielínicas.

Los fibroblastos endoneurales, no son muy numerosos y se sitúan en mayor cuantía subperineuralmente o en los septos endoneurales. Son de estructura angular y poseen del orden de uno a cuatro procesos citoplasmáticos que se ramifican extensamente entre las fibras nerviosas individuales. Ultraestructuralmente se diferencian de las células de Schwann, por la ausencia de membrana basal y un citoplasma rico en ribosomas y retículo endoplásmico rugoso.

La función del perineuro no es clara. SUNDERLAND, 1965 (165), sugiere que puede mantener la presión en el interior del fascículo ayudando así al flujo axoplásmico. Para MORRIS et al, 1972 (102), funciona como una barrera que aísla los axones de sustancias potencialmente dañinas en el tejido mesodérmico que le rodea. RAMON Y CAJAL, 1928 (28); HUDSON et al., 1973 (62) y JURECKA et al., 1975 (69),

demonstraron que los axones crecían sólo cuando la regeneración se producía en el interior de un tubo perineural, demostrando así el importante papel del perineuro en el proceso de regeneración axonal. NESBITT y ACLAND, 1980 (105), demostraron la regeneración del perineuro a continuación de una lesión de pérdida del mismo, en la cual, la regeneración ocurre de una manera uniforme a lo largo del defecto.

Los nervios menores carecen de epineurio. Un nervio menor está formado por un tubo de perineurio dentro del cual hay tubos de endoneurio conteniendo cada uno una fibra nerviosa.

ELEMENTOS VASCULARES DEL NERVIO

Tanto en la constitución anatómica como funcional, no debemos desligar a los vasa nervorum de las estructuras conectivas: epineuro y perineuro.

Por el espacio epineural discurren los vasos que integran el sistema extrínseco. Está constituido por una red vascular de predominio longitudinal con abundantes conexiones transversales. Los vasos de mayor calibre ocupan los espacios interfasciculares a lo largo del tronco nervioso. Esta red vascular, como afirmó SUNDERLAND, 1945 (140), se forma a partir de los ramos que segmentariamente llegan al nervio desde los vasos regionales importantes, que le acompañan directamente desde el propio lecho muscular. La mayor dependencia de una u otra fuente está en relación con la situación

anatómica de cada tronco nervioso y sus relaciones de vecindad. Según VILLAS, 1980 (158), la mayoría de los vasos que integran el sistema extrínseco, son capilares que fundamentalmente ocupan los finos tabiques de la grasa epineural. Los vasos de mayor entidad; arteriolas y venulas, pre y postcapilares, constituyen en número variable la trama longitudinal más importante. Esta trama tiene continuidad con los vasos radicales y medulares, formandose de esta forma una red ininterrumpida, CROCK and YOSHIZAWA, 1977, (33). Para CAMPOS et al en 1979, el número de vasos nutricios es variable y no hay una relación entre la proximidad de estos vasos y lo mejor o peor vascularizado del nervio. Existen capilares linfáticos regionales que acompañan a los vasos nutricios, SUNDERLAND, 1968 (139).

El perineuro es el límite externo del espacio endoneural, por el que discurren los vasos que integran el sistema intrínseco, PETERS et al., 1976 (111). La totalidad de los vasos endoneurales son capilares, constituidos al corte por dos o tres células endoteliales con fuertes puentes de unión intercelular y rodeados por una fina membrana basal.

Al igual que en el sistema extrínseco, existe una trama reticular formada por abundantes ramos anastomóticos transversales. Estos vasos contactan con la red epineural o provienen de ella atravesando la pared epineural, en la que excepcionalmente se observan vasos longitudinales incluidos en el espesor. LUNDBORG y RYDEVICK, 1973 (77), muestran un esquema dinámico de

vascularización en todos los sentidos, así un nervio seccionado, aun tras ser liberado parcialmente de su lecho, está irrigado hasta ambos bordes de sección por las respectivas porciones proximal y distal de la red longitudinal. Esto explica porque el cabo distal sangra después de una sección nerviosa, SUNDERLAND, 1968 (139).

FIBRAS NERVIOSAS DE LOS NERVIOS PERIFERICOS

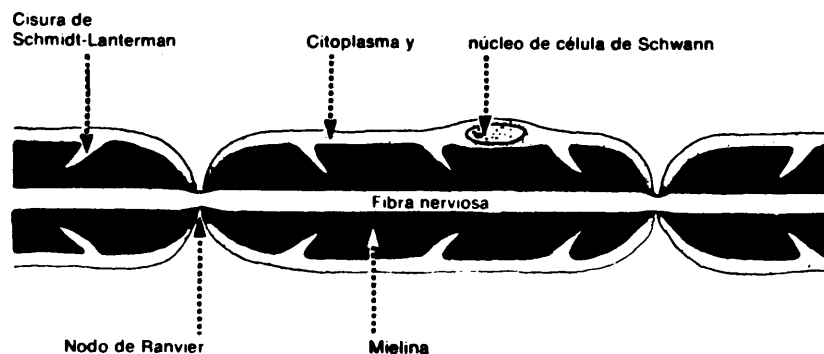
Cada fibra nerviosa en el SNP está cubierta por una vaina citoplásmica delicada y delgada denominada neurilema o vaina de Schwann. Las células que forman esta vaina se derivan de células neuroectodérmicas que crecen a lo largo de las fibras nerviosas conforme son empujadas desde las crestas neurales o desde el tubo neural.

En una clase de fibra nerviosa hay una vaina de mielina, entre la fibra nerviosa y la vaina de Schwann, que es de grosor importante; estas fibras se denominan fibras mielínicas. En la otra clase de fibras (que tienden a ser menores) la cubierta de mielina es muy delgada, de modo que se denominan fibras amielínicas, y en cualquier sitio hay una docena o más de estas fibras encerradas por el citoplasma de la misma vaina de célula de Schwann.

Las fibras mielínicas estan formadas por una

célula de SCHWANN que engloba un solo axón recubierto de mielina. Este complejo, que es interrumpido en sentido longitudinal por las llamadas estrangulaciones ó nódulos de Ranvier, se encuentra envuelto sin solución de continuidad, desde su salida en la médula espinal hasta su llegada al órgano aferente, por la membrana basal ó vaina de Schwann. La sustancia mielínica está formada por dos capas de la membrana de células de Schwann fusionadas, formando alternativamente líneas densas y claras. A mayores aumentos se ha visto que la menos densa es doble. Existen por otra parte puntos de contacto entre el axón y el espacio endoneural a expensas del mesoaxón externo e interno, representando los puntos donde la mielinización comienza y termina.

El axón está formado por el agrupamiento de microtúbulos y de microfilamentos intercalados con abundantes procesos mitocondriales. El citoplasma de la célula de Schwann se encuentra minimizado por este tipo de fibras, aunque el núcleo y su correspondiente membrana basal se pueden observar en cortes transversales. El tamaño de las fibras de mielina oscila entre las dos y las doce micras, existiendo una relación directa entre el tamaño del axón y el de la vaina de mielina, excepto en los procesos regenerativos, en los que se altera esta proporción.



-.FIG 3: Representación de una fibra mielínica con su vaina.

Las fibras amielínicas están formadas por la acumulación de axones sin mielina en el citoplasma de una célula de Schwann. Esta posee una membrana basal y un citoplasma con una dotación moderada de microfibrillas, microtúbulos y mitocondrias; el resto está compuesto por ribosomas libres, retículo endoplásmico rugoso y aparato de Golgi. El axón amielínico carece de capa de mielina y está separado del citoplasma de la célula de Schwann por la membrana basal, aunque mantiene una comunicación con el exterior a través del mesoaxon. La estructura íntima del axón amielínico no difiere en nada de la del mielínico, excepto en su tamaño, mucho mas pequeño.

En el nervio cutáneo humano se ha comprobado que las fibras amielínicas exceden en número a las mielínicas en una proporción de 4/1. El número de axones amielínicos por célula de Schwann es variable y oscila entre cuatro y seis, según la especie de que se trate, ASBURY y JOHNSON, 1978 (10).

NUDOS DE RANVIER.

La mielina de las fibras mielínicas no es continua: está interrumpida de manera periódica por estrechamientos (llamados también nudos) de Ranvier. En estos nudos no hay mielina, y la vaina de Schwann de la fibra se hunde en la fibra nerviosa, pero no la cubre por completo. En estos sitios, como se ha demostrado en los estudios de ROBERTSON con el ME, la fibra nerviosa está descubierta en parte por lo tanto. Hay una célula de vaina de Schwann entre cada dos nudos. La distancia entre dos nudos adyacentes de Ranvier en la misma fibra varía: puede ser hasta de 1 mm.

Los nudos de Ranvier existen también en el SNC pero, desde luego, ahí no hay células de vaina de Schwann, puesto que en ese sitio la mielina es producida por los oligodendrocitos.

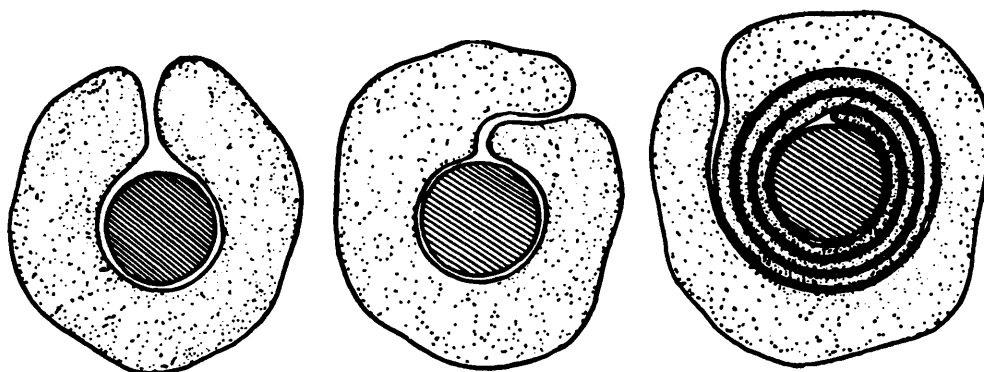
Sabemos cual es la función de estos nudos de Ranvier, la de servir como estación intermedia en la transmisión saltatoria del impulso electrofisiológico. En relación con estos nudos en el SNC, las fibras nerviosas amielínicas con vainas mínimas de mielina, y sin nudos de Ranvier, no conducen los impulsos nerviosos con tanta rapidez como las fibras mielínicas.

En los nervios periféricos fijados con ácido ósmico la mielina entre los estrechamientos de Ranvier está interrumpida por fisuras o surcos pequeños que se extienden hasta ella desde la superficie; estos sitios se denominan surcos de Schmidt-Lanterman, y los

segmentos entre ellos se denominan segmentos de Schmidt-Lanterman. Los surcos han sido estudiados mediante métodos histoquímicos por Shanklin y Azzam.

FORMACION Y ESTRUCTURA FINA DE LAS VAINAS DE MIELINA

Según la hipótesis aceptada en general en la actualidad, según HAM 1975 (53), la vaina de mielina del SNP está formada como sigue:



-FIG 4: Esquema simple del proceso de mielinización.

El citoplasma de una célula de Schwann rodea a un cilindroeje. A continuación el axón descansa en una cubierta larga de células de Schwann. La célula de Schwann (o parte de la misma) empieza a tirar a continuación alrededor del cilindroeje. La célula de Schwann empieza a girar alrededor del axón, respecto al aspecto con ME, se observará como línea doble, cuando la membrana que reviste una parte del surco en el cual se halla incluido el axón entra en contacto con la membrana

celular que reviste la otra parte de dicho surco. Estas dos membranas llegan a reunirse y, cuando la célula sigue girando alrededor del axón, constituyen una serie de anillos formados por líneas dobles: cada una de estas líneas representa una membrana celular. Entre los anillos dobles vecinos al principio hay citoplasma. Cuando el giro continúa, el citoplasma queda aplastado o desaparece en otra forma. En consecuencia, la vaina de mielina está constituida por anillos de membrana celular de dos capas cada una.

Para comprender de qué manera se forma una vaina a base de estos anillos de membrana transformándose en mielina, no hemos de considerar el citoplasma, ya que ha sido exprimido o perdido; lo que debemos considerar es de qué manera una estructura formada por anillos concéntricos, cada uno de los cuales está formado por dos membranas, toma el aspecto de la mielina.

Con microscopio de mucho aumento, podemos observar que una vaina de mielina completamente formada revela anillos oscuros concéntricos, cada uno de aproximadamente 25 Å de grueso, separados entre sí por anillos de un material más claro, de aproximadamente 100 Å de espesor. Las líneas oscuras que se repiten reciben el nombre de líneas densas mayores; con una fijación especial y una buena resolución, en el centro de cada capa clara puede verse una línea oscura más delgada; estas líneas finas situadas a mitad del camino entre dos líneas densas mayores reciben el nombre de líneas

intraperiódicas.

Vamos a ver ahora en qué forma puede llevar a producirse este aspecto a partir de capas concéntricas de membranas celulares.

En condiciones adecuadas, una membrana celular aparece formada por dos líneas oscuras con un espacio claro entre ellas; la membrana en total tiene aproximadamente 75 Å de espesor. Los datos que poseemos sugieren que la capa media de la membrana celular (la cara clara) contiene lípido, mientras que las dos capas oscuras que rodean la membrana a cada uno de sus lados contienen proteína. Para proseguir la formación de la mielina es menester pensar desde ahora considerando las dos membranas celulares que entran en contacto, cuando gira la membrana de Schwann, cada una formada de una línea doble con material claro, que probablemente sea lípido, entre cada línea doble.

Cuando la célula de Schwann continúa rodeando la fibra nerviosa, las capas externas de las dos membranas celulares entran en contacto y se fusionan. La línea oscura así formada queda comprimida hasta constituir la línea intraperiódica fina. Luego, cuando el citoplasma es vaciado por expresión, las líneas internas de las membranas celulares que antes bordeaban estos citoplasmas se ponen en contacto y se fusionan; así se forman las líneas densas mayores. Por lo tanto, la mielina que llena el espacio entre las dos líneas densas mayores proviene principalmente del lípido que

existía en las capas medias de las dos membranas celulares que se fusionan. No sabemos todavía por qué motivo la fusión de dos capas externas de dos membranas celulares resulta en una sola línea obscura delgada (intraperiódica) y la fusión de dos capas internas de la membrana celular en una línea densa mayor gruesa.

En el citoplasma de una sola célula de Schwann se hallan varias fibras no mielínicas.

VISION DE LOS NERVIOS EN CORTES ESTUDIADOS MEDIANTE MICROSCOPIO DE LUZ

Al preparar un corte ordinario de parafina para teñirlo con H y E, la mielina que rodea cada fibra nerviosa, a menos que se trate con mordientes especiales, debido a su naturaleza lípida se disuelve con los agentes deshidratantes y aclarantes. Esto hace que la fibra nerviosa se deslice hacia un lado del espacio tubular que crea la mielina que se va disolviendo. Por lo tanto, los cortes transversales teñidos con H y E de los nervios muestran la zona previamente ocupada por las vainas de mielina como pequeños espacios redondeados, casi todos vacíos, excepto a nivel de la fibra nerviosa, y ésta puede situarse hacia uno u otro lado más bien que en el centro del espacio. En el exterior del espacio, o haciendo algo de prominencia en él, puede verse el neurolema levemente teñido. Los núcleos observados en la substancia de un haz nervioso en un preparado teñido con H y E son los del neurolema (células de las vainas de Schwann) y los

de los fibroblastos y macrófagos del endoneurio, junto con los núcleos de las células de los vasos sanguíneos que se hallan en el endoneurio. Sin embargo, en una preparación con ácido ósmico, la mielina que rodea las fibras nerviosas no se disuelve y desaparece, sino que queda conservada y teñida de negro. Por lo tanto, las vainas de mielina de las fibras nerviosas aparecen como anillos negros en este tipo de preparación.

Pero los demás elementos del nervio no se observan muy bien en los preparados corrientes de ácido ósmico. Los preparados de ácido ósmico muestran netamente que las fibras en el nervio tienen dimensiones diferentes.

En preparados simples teñidos con H y E, los nervios cortados oblicuamente o en plano casi longitudinal tienen frecuentemente aspecto muy diferente del que cabe esperar según el corte transversal. En lugar de verse anillos donde se ha disuelto y ha desaparecido la mielina, se ven tiras. Además, el aspecto de los nervios cortados oblicua y longitudinalmente se hace más patente por los pequeños núcleos delgados y aplanados que se observan entre las fibras; son los núcleos de las células del neurolema y las células del endoneurio. Las tiras no tienen un trayecto directo longitudinal sino una forma ondulada serpenteante.

La mayor parte de nervios periféricos son de tipo mixto; contienen fibras aferentes y fibras

eferentes.

DEGENERACION Y REGENERACION DE LOS NERVIOS PERIFERICOS

Cuando un nervio resulta lesionado, las lesiones pueden revestir diferente importancia: La clasificación de las lesiones de los nervios periféricos, en relación con los agentes traumáticos, se debe a SEDDON y SUNDERLAND EN 1972. El primero describe tres tipos de lesiones con una repercusión motora ó sensitiva, y las clasifica en:

- Neurapraxia.
- Axonotmesis.
- Neurotmesis.

Neuroapraxia

Esta lesión presenta una alteración de la mielina en un determinado punto, siendo poco extensa. Se presenta como resultante de un síndrome compresivo.

En el lugar de la lesión aparece una disociación de la mielina, sin afectación de la continuidad del axón.

En la clínica aparece una parálisis motora.

La recuperación es espontanea a la normalidad, si la causa desaparece; de no ser así puede derivar en una lesión axonal.

Axonotmesis

Aquí encontramos una sección del axón y su mielina.

A partir de este momento se inicia la degeneración walleriana y la posterior regeneración. Este proceso no va a producir secuelas, gracias a la conservación de endo. y perineuro.

Clínicamente se presenta con alteraciones motoras, sensitivas y simpático-vegetativas.

Neurotmesis

Es una alteración de todas las estructuras que componen el nervio, en la cual es imposible que se realice, como en los casos anteriores, una regeneración espontanea. Esto es debido a la formación de tejido fibroso cicatricial, tanto en el extremo proximal como en el distal, que va a impedir la regeneración axonal.

A partir de este momento, debemos poner en práctica las técnicas microquirúrgicas de reconstrucción aplicadas a los nervios periféricos, si se quiere recuperar la continuidad axonal.

Clínicamente se manifiesta por una alteración total de las funciones motoras, sensitivas y simpático-vegetativas.

Siguiendo otra clasificación de HAM, puedo dividir a las lesiones nerviosas en:

LESIONES DE PRIMER GRADO. Suelen estar causadas por presión ejercida sobre una porción localizada de nervio durante cierto tiempo. Probablemente actúe comprimiendo los vasos sanguíneos del nervio y produciendo anoxia de los axones, bastante para impedir su función. Por compresión, las fibras sensibles se afectan más rápidamente que las motoras, y los diversos tipos de fibras sensibles tienen susceptibilidades diferentes. Una vez suprimida la presión, puede recuperarse la función de las fibras afectadas en minutos, horas o semanas, según la gravedad de la lesión. Si el restablecimiento no se logra en unas pocas semanas, la lesión debe considerarse más grave que de primer grado, según vamos a ver.

LESIONES DE SEGUNDO GRADO. Suelen estar causadas por presión prolongada, o intensa, o con ambas características, sobre una parte del nervio, presión suficiente para destruir el axón en la zona lesionada, sería el equivalente de la axonotmesis. A veces los nervios se lesionan así voluntariamente, para lograr la parálisis temporal de algunos músculos cuya acción dificulta el reposo y el restablecimiento de alguna

parte del cuerpo (por ejemplo, se aplastan los nervios de una parte del diafragma para poner en reposo el pulmón correspondiente), según Ham.

La presión intensa requerida para producir lesiones de segundo grado a los nervios causa la muerte de los axones en la zona donde se aplicó. En tal sentido, la lesión de segundo grado es fundamentalmente distinta a la de primer grado. Cuando muere aunque sólo sea una pequeña porción de un axón, la parte distal con relación a la zona lesionada también muere, porque queda separada del cuerpo celular del cual depende su existencia. En consecuencia, la función nerviosa en una lesión de segundo grado sólo puede restablecerse por regeneración de los axones más allá de la zona lesionada.

LESIONES DE TERCER GRADO. Serían el equivalente a la neurotmesis.

Cuando el cuerpo celular se recupera de la reacción axónica, empieza a sintetizar nuevo axoplasma. Ello tiene por consecuencia que el nuevo axoplasma se dirija al lugar donde el axón fue aplastado, y pasa más allá. Para estudiar el destino ulterior del mismo hemos de considerar necesariamente algunos otros cambios causados por la lesión.

Cuando los axones más allá de la zona lesionada mueren, las vainas de mielina que los rodea

también degeneran.

Fue WALLER en 1850 (159), el primero en descubrir las alteraciones que tenían lugar tras la sección de un nervio. En el momento actual, la aplicación de sofisticadas técnicas no ha alterado básicamente el concepto del proceso. Es por ello que las observaciones de WALLER prevalecen en la actualidad y se conoce con el nombre de degeneración WALLERIANA, a las alteraciones que van a tener lugar en el segmento distal de un tronco nervioso, después de haber sufrido una lesión que haya causado interrupción axonal.

En las primeras doce horas que sigue a la sección, no se observan signos de degeneración, excepto una cierta laxitud en la vaina de mielina. En los segmentos afines a la sección se observa un aumento de la actividad ácido fosfatasa, GOULD y HOLT, 1961 (47) y HOLTZMAN y NAVIKOFF, 1965 (59). La actividad de otras enzimas también está incrementada, incluyendo las enzimas oxidativas, MORGAN, 1968 (101) y colinesterasa, LUBINSKA, 1964 (76). Existe además una disminución del contenido de lípidos en el extremo distal 24 horas después de la sección. MAJNO y KARNOVSKY, 1958 (85), encontraron que la cuarta parte de los lípidos del extremo distal habían desaparecido antes de que las células de Schwann y los macrófagos fueran visibles.

A las 24 horas de la sección, se produce una abundante reacción celular en el lugar de la lesión y se inicia una proliferación de tejido perineural procedente

de ambos extremos, proximal y distal, hacia la zona de interrupción. En la parte distal del nervio hay todavía pocos cambios; algunas fibras aparecen ligeramente hinchadas y la vaina de mielina presenta una ligera retracción hacia los nódulos de Ranvier.

Al segundo y tercer día, la alteración de la vaina de mielina es más intensa y los cambios axonales se hacen visibles. La mielina comienza a segmentarse y se separa formando hileras de ovoides y elipsoides, entre los que se incluyen fragmentos axonales. Ya CAJAL, 1928 (28) había observado que la segmentación de las fibras mielínicas tiende a ocurrir en las incisiones de Schmidt-Lanterman. Esta fragmentación de las vainas de mielina, está asociada con hipertrofia e hiperplasia de las células de Schwann, BRADLEY y ASBURY, 1970 (22). WEBSTER, 1965 (160) confirmó estas observaciones y apuntó el hecho de que el número de incisiones por internodo se incrementa durante los dos primeros días. Las fibras desmielinizadas parecen sufrir este cambio más rápidamente que las gruesas fibras mielinizadas, COTTLE y MITCHELL, 1966 ; DICK y HOPKINS, 1972 (38); THOMAS y KING, 1974 (151); ROTH y RICHARSON, 1969 (120). Finalmente todas las fibras en el extremo distal degeneran.

Hacia el cuarto día, una importante actividad mitótica se hace evidente en la población de células de Schwann, en la parte más distal del cabo proximal y por completo en el extremo distal. Las células de Schwann proliferantes se alinean longitudinalmente, dando lugar

a las denominadas bandas de Bungner, en el interior de los tubos de Schwann, formados estos por la membrana basal de las células de Schwann que permanecen intactas. Estas células dan lugar a un auténtico armazón que asiste en la proliferación y orientación de las células de Schwann y en el crecimiento de los axones regenerantes que provienen del extremo proximal, CAJAL, 1928 (28) y THOMAS, 1964 (149) . En la formación del tubo de Schwann colaboran también las fibras colágenas endoneurales adyacentes. Estas fibras se sitúan alrededor de la vaina de Schwann. Ya THOMAS, 1964 (150) sugirió la posibilidad de que las células de Schwann sinteticen un precursor del colágeno, que condicione su agrupamiento alrededor de los tubos de Schwann.

Al octavo día de la sección, un corte longitudinal de la porción distal del nervio muestra una gran cantidad de glóbulos orientados longitudinalmente que corresponden a productos de degeneración de mielina que se cruzan con cabos ondulantes de proliferación de células de Schwann. Cuando el proceso regenerador procedente del cabo proximal falla, los tubos de Schwann encogen y el extremo distal del nervio se va contrayendo y va siendo reemplazado por tejido conectivo quedando de él solamente un esqueleto. Si por el contrario la regeneración sucede nuevas fibras encuentran su camino desde el cabo proximal al distal y después de algunos meses el nervio parece relativamente normal. Sin embargo, el número de núcleos celulares por unidad de área se encuentra aumentado, según ABERCROMBIE y JOHNSON, 1946; la longitud internodal de las fibras

mielínicas de todos los diámetros se reduce a una distancia constante de 0,4-0,5 mm para VIZOSO y YOUNG (1948). La cantidad de colágeno endoneural se ve incrementada y las vainas de mielina son más cortas y delgadas.

El axón y la mielina degenerados de los muñones distales de nervios periféricos cortados atraen macrófagos del endoneurio, que fagocitan el material degenerado. Se admite que las células de Schwann también se hacen fagocíticas y ayudan a suprimir los restos en la zona lesionada.

Una lesión de segundo grado no interrumpe la continuidad de los tubos endoneuriales a nivel de la lesión. En consecuencia, cuando los cuerpos celulares que corresponden a los axones del nervio se recuperan y empiezan a mandar axoplasma a la zona lesionada y más allá, este nuevo axoplasma de cada neurona circula por el mismo tubo endoneurial que antes estaba ocupado por el axón correspondiente. El axoplasma suele extenderse por los tubos endoneuriales con velocidad de 2 a 3 mm. al día; se admite que disminuye cuando el nuevo axoplasma se acerca a las terminaciones de las fibras. Cuando alcanza las terminaciones de las fibras se establece la función. El nuevo axoplasma se mieliniza y recubre de una vaina de Schwann en forma análoga a como ocurre en las lesiones de tercer grado, que vamos a estudiar. Todo ello se ilustra a continuación.

DEGENERACION Y REGENERACION DE UN NERVIIO SECCIONADO

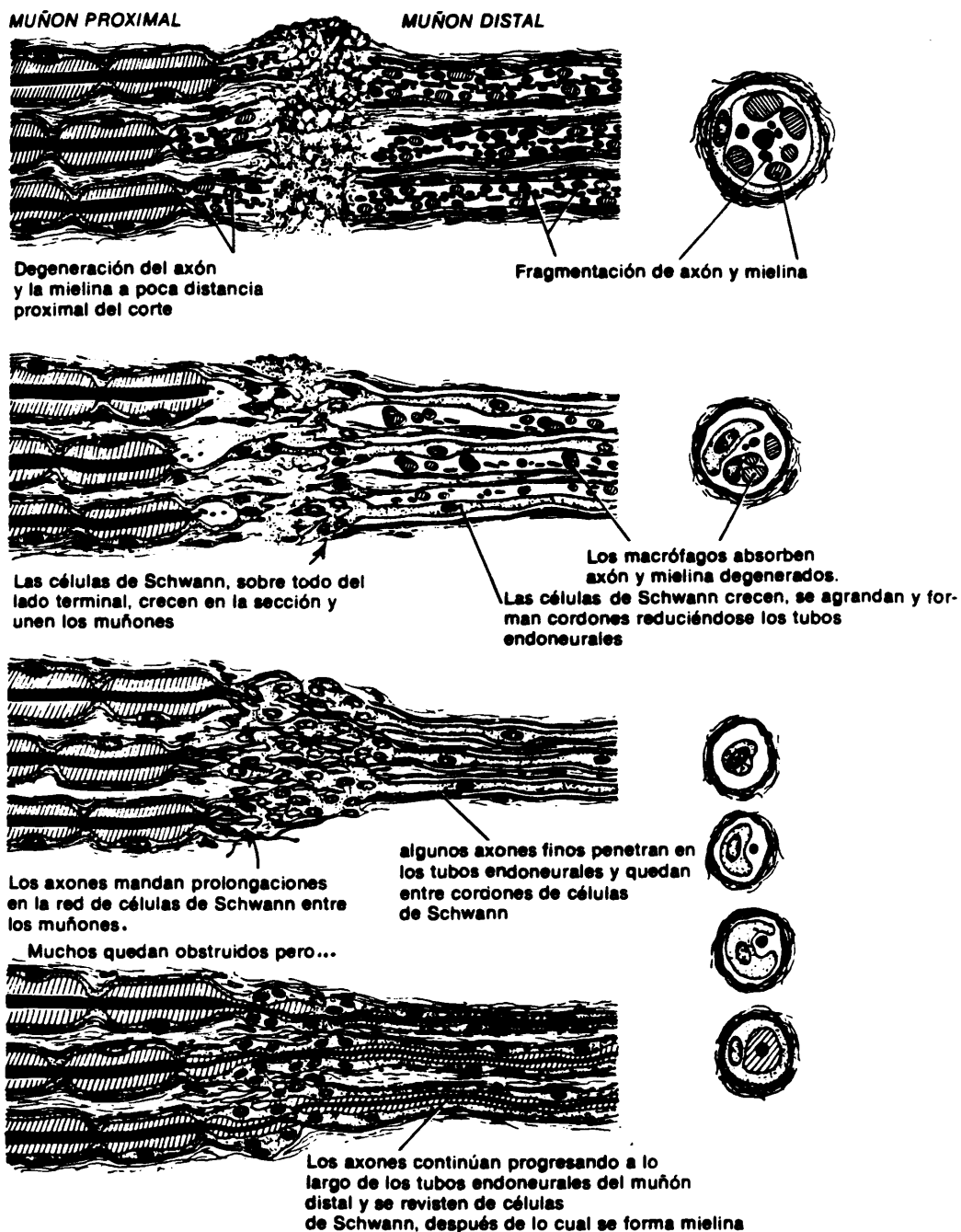


FIG 5: Proceso de degeneración y regeneración nerviosa tras producirse una sección en el nervio.

REGENERACION NERVIOSA

Desde las primeras horas siguientes a la sección nerviosa hay una evidencia de actividad regenerativa con profusión de brotes axonales argirofilos de pequeño grosor (0,1 a 1 micra), formados preferentemente a expensas de las fibras amielínicas del muñon proximal, CAJAL, 1928 (28), como se vé en la figura.

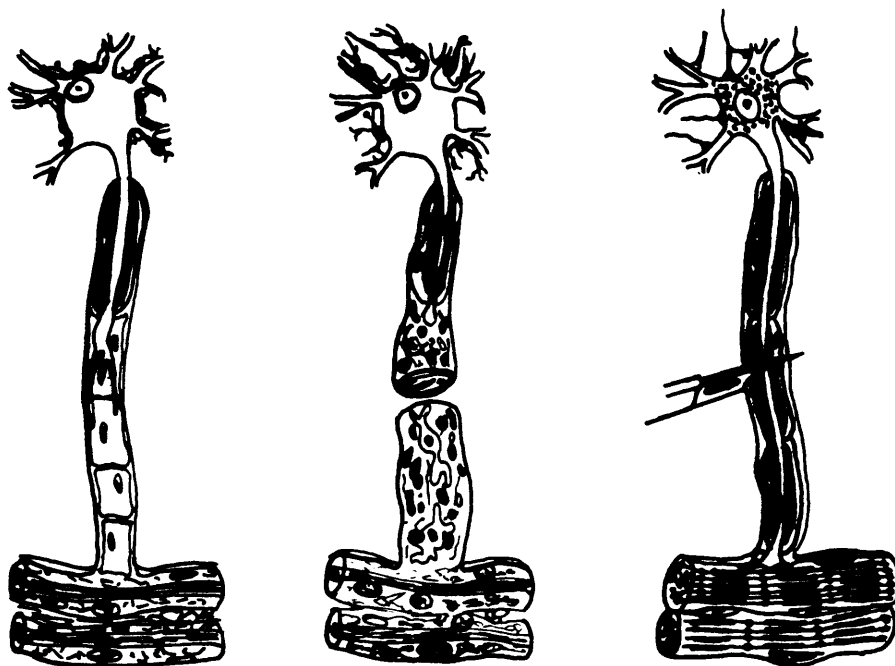


FIG 6: Esquema de la proliferación de yemas axonales durante la regeneración.

Según WEIS en 1945, estos brotes se dirigían por contacto con las superficies y no por factores intrínsecos hacia los tubos de Schwann del fragmento distal. El descubrimiento por LEVI-MONTALCINI y HAMBURGER en 1951 del factor de crecimiento nervioso (NGF) y su posterior purificación por COHEN en 1959,

pusieron de manifiesto que el proceso de regeneración axonal se veía notablemente influenciado por los factores de crecimiento, según VARON en 1975. Posteriormente SECKEL, 1984 (129), demostró la gran importancia del extremo distal como fuente de factores de crecimiento, necesarios para el proceso regenerador. El crecimiento masivo de células perineurales, fibroblastos y células de Schwann desde el extremo proximal y distal da lugar a un puente por el cual los axones regenerantes pueden alcanzar el extremo distal, THOMAS, 1964 (150). Posteriormente estos axones regenerados continúan por los tubos de Schwann, progresando por el fragmento distal sin obstrucción a una velocidad de 2-3 mm. por día, estando este proceso regulado por múltiples factores, SUNDERLAND, 1968 (139) y SEDDON, 1963 (130).

En su progresión, estos axones son englobados por el citoplasma de las células de Schwann que han proliferado en gran cantidad. En el caso de las fibras mielínicas estos axones sufren un proceso de selección que condiciona la permanencia del mayor de ellos, único que se beneficia del proceso de mielinización.

Estas fibras mielínicas aunque estructuralmente semejantes a las normales son de tamaño más pequeño y no es extraño encontrar la presencia de dos fibras mielínicas en el interior de la vaina de Schwann. Estos hechos permiten aceptar que el afrontamiento de los cabos nerviosos debe de ser perfecto, para permitir el contacto entre los brotes

axonales del polo proximal y la vaina de Schwann del polo distal. En caso contrario los axones crecen a partir del extremo proximal, pero no pueden penetrar en los tubos Schwannianos del distal y dan lugar a una masa desorganizada o neurona traumática al final de aquél, mientras que las células de Schwann del extremo distal, proliferan de forma anárquica dando lugar a la creación de un Schwanoma.

CARACTERISTICAS ANATOMOQUIRURGICAS DE LOS NERVIOS

VARIABILIDAD DE LOS FASCICULOS.

Un nervio voluminoso rodeado de perineurio contiene varios haces de fibras. Cada haz está rodeado por una vaina densa de perineurio. Los fascículos que componen las estructuras nerviosas periféricas, no se mantienen aislados, ni mantienen su localización desde su origen hasta su terminación. A tal respecto SUNDERLAND, 1978 (138), postuló el hecho de que los fascículos de un tronco nervioso continuamente se dividen y fusionan a lo largo de un nervio, variando continuamente de tamaño y localización. De esta manera dan lugar a una estructura plexiforme. Estos cambios se establecen en muy cortas distancias, lo que practicamente hace imposible que en una pérdida de sustancia nerviosa, la imagen de un corte transversal del extremo proximal y distal pueda coincidir. De esta forma, la realineación fascicular se hace especialmente compleja.

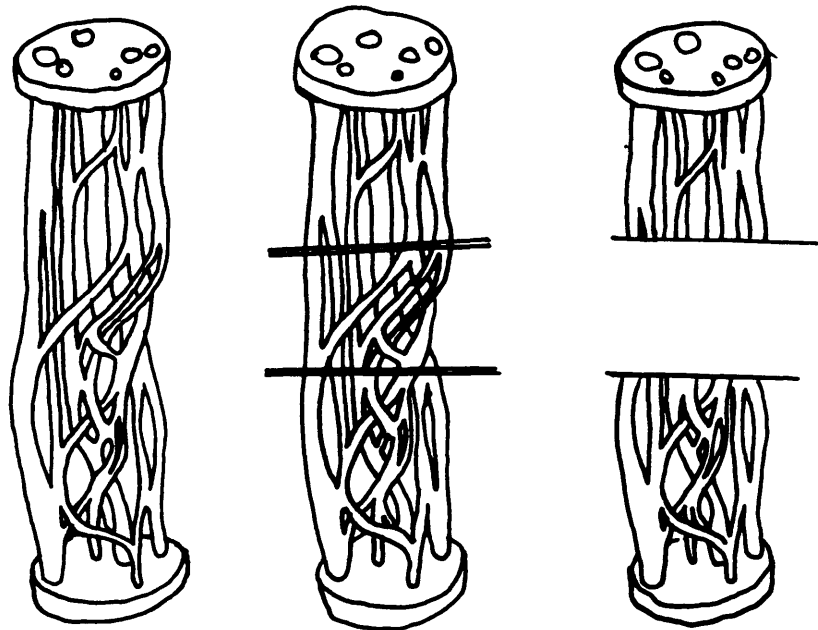


FIG 7: Representación esquemática de la teoría de Sunderland sobre la variabilidad de los fascículos.

MILLESÍ, 1972, 1981 y 1984, (95), (96), (97) y (98), opinaba contrariamente, que los grupos fasciculares se mantienen constantes por largas distancias.

JABALEY 1980, (65), tomando como punto de partida las experiencias de SUNDERLAND, realizó una serie de laboriosas disecciones de grandes nervios (radial, cubital y mediano) de cadáveres sin fijar, considerando en sus conclusiones que las opiniones de SUNDERLAND eran incompletas e innecesariamente pesimistas. Por otro lado reitera la opinión de SUNDERLAND en lo referente a la estructura plexiforme y de interconexiones, pero establece que las unidades

funcionales permanecen localizadas en el mismo cuadrante, durante distancias considerables y esto se traduce en la posibilidad de realizar en ellas manipulaciones quirúrgicas. Por tanto, con gran probabilidad, si la falta de tejido nervioso no es muy importante, las imágenes de cortes trasversales a nivel proximal y distal, podrán considerarse como en espejo. En consecuencia, el volumen relativo de los fascículos de un nervio cambia continuamente en toda la longitud del mismo. De aquí que si se destruye una parte pequeña de un nervio, por ejemplo, y se intenta unir dos muñones quizá los fascículos de ambos no se aparejen unos con otros.

Para unir los dos muñones de un nervio, una porción del cual ha sido destruida, por ejemplo, por un proyectil, hay que tirar de los dos extremos que se desea poner en contacto. Los nervios pueden someterse a tracción hasta cierto punto sin lesión. Esto probablemente dependa, en parte, por lo menos, de que las fibras nerviosas no siguen un curso recto a lo largo del nervio, sino en zigzag. Al tirar de un nervio (por lo menos hasta cierto punto) solamente se enderezan las fibras sin someterlas a verdadera tracción. Las poderosas vainas perineurales limitan la tracción que sufre un nervio.

Cuando observamos un corte transversal del nervio, podemos distinguir los diferentes fascículos que componen el mismo (en nervios polifasciculares). Ahora bien, estos fascículos no pueden ser conectados mediante

un injerto, con los del otro lado, de una forma aleatoria, ya que están divididos en injertos sensitivos y motores (en los nervios mixtos), existiendo en éstos un claro predominio de fascículos sensitivos. Será necesario hacer contactar, mediante un injerto, los fascículos sensitivos, con los sensitivos del extremo distal y los motores con los motores. Cualquier otro tipo de afrontamiento repercutirá en el resultado funcional.

Veamos un esquema tomado de Terzis del mapa fascicular en el plexo braquial humano:

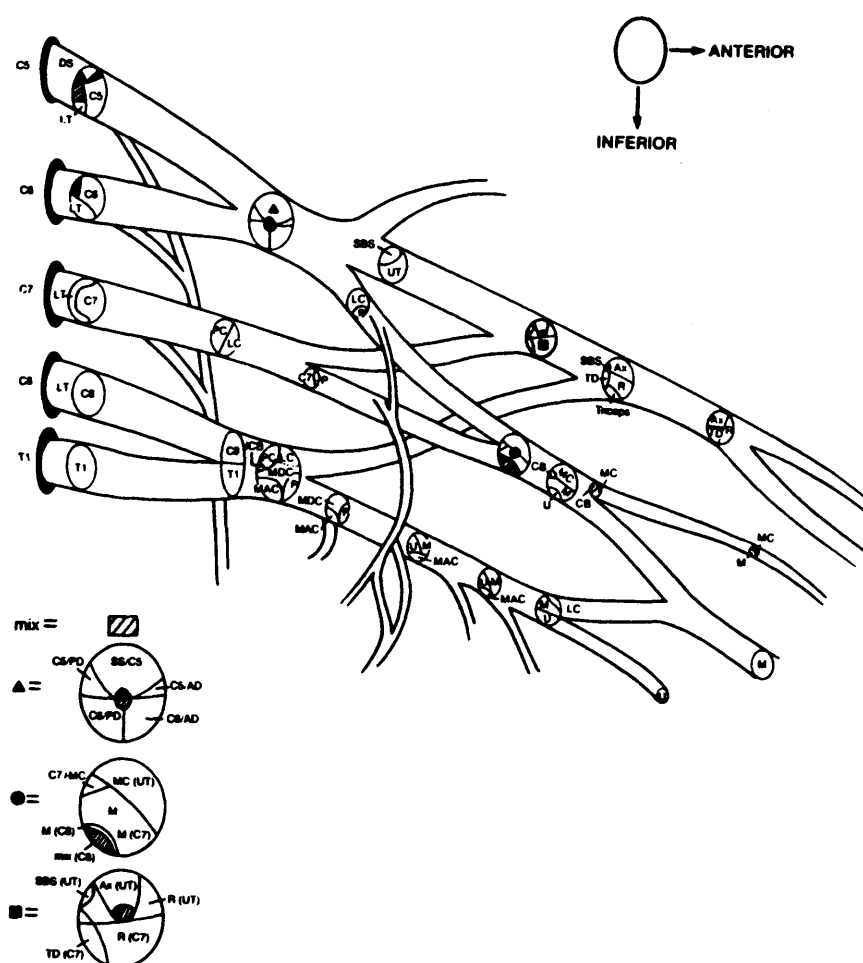


FIG. 8: Esquema sensitivo.

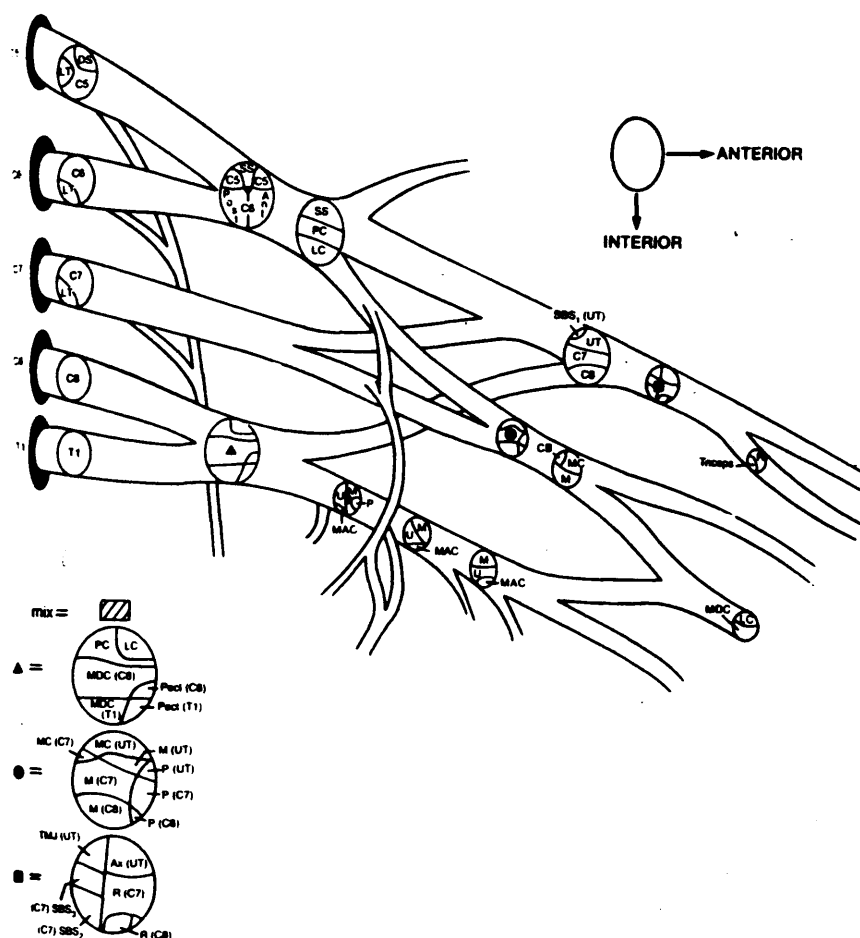


FIG. 9: Esquema motor.

Siempre que se actúa en clínica se utilizarán como injertos nervios sensitivos, para no privar así a ninguna estructura de su movilidad o función. SUNDERLAND and RAY, 1947 (142), establecieron como nervios más idóneos por sus características, el nervio sural, braquial cutáneo interno y la rama cutánea del radial. El nervio sural es el elegido con mayor frecuencia, por ser un nervio de una longitud suficiente y por estar desprovisto de ramas; sólo alguna de ellas aparece en su

periferia. Por otro lado, el déficit sensitivo a que da lugar, una pequeña región lateral del pie, es prácticamente insignificante, MILLESI, 1981, (95) y (96). A nivel experimental, esta premisa no es necesaria y se utilizan con frecuencia nervios mixtos y motores. Los nervios pequeños están compuestos de un fascículo único, rodeado de vaina de perineurio.

El número de fibras nerviosas incluidas en un fascículo varía mucho, al igual que el diámetro de las fibras nerviosas en el mismo. Sunderland, Lavarack y Ray han comprobado, por ejemplo, que el nervio cutáneo externo derecho de una persona solo contenía un fascículo y éste incluía 3.160 fibras. El mismo nervio en el lado izquierdo contenía siete fascículos que contenían un total de 10.178 fibras. Midieron los diámetros de todas las fibras en un fascículo que contenía 1.242 fibras y comprobaron que el 60 por 100 aproximadamente tenían menos de 8 de ancho, 15 por 100 tenían de 8 a 15 de ancho, y el 23 por 100 tenían de 16 a 23 de ancho; el 0.5 por 100 tenían más de 23 de ancho.

Lavarack, Sunderland y Ray han contado el número de fibras en nervios a diferentes alturas y han comprobado que hay un número mayor en las porciones distales que en las proximales de algunos nervios. El aumento en el número de fibras se atribuye a la ramificación de éstas en el interior de los mismos nervios. Hasta aquí, hemos determinado la existencia de fascículos sensitivos y motores. Sin embargo, no basta con ello. Antes de realizar el afrontamiento

fascículo/injerto, es necesario diferenciar los fascículos en sensitivos y motores, para lo cual se han propuesto diferentes técnicas.

Según BRUNELLI (1980) los fascículos pueden ser reconocidos y orientados:

a) Basándonos en la forma externa de los cabos nerviosos.

b) Conociendo la rotación que los troncos nerviosos han sufrido.

c) Fijándose en la posición de los vasos epineurales.

d) Conociendo el esquema de distribución fascicular del nervio.

e) Observando la imagen en "espejo" del mapa fascicular en ambos extremos.

En ocasiones, y sobre todo, cuando la cantidad de tejido eliminado es considerable, estas técnicas aportan escasos resultados, para ello será necesario recurrir a dos tipos de métodos:

1) Método histoquímico.

2) Método electrodiagnóstico.

1) METODO HISTOQUIMICO.

Los nervios motores tienen una alta concentración de acetil colinesterasa, que puede ser detectada por diferentes medios de tinción, como describieron GRUBER et al, 1976 (48), sin embargo, el método requiere 24 horas y esto es demasiado tiempo para que el producto pueda ser utilizado durante una intervención quirúrgica, aunque ésta se desarrolle en animales. Más recientemente ENGEL et al, 1979 (44), describieron un método radioquímico basado en la actividad de acetil colina transferasa. Por este método, la formación de acetilcolina radioactiva desde colina y acetilCoA es determinada para cada fascículo individualmente. Los fascículos mixtos presentan un incremento de actividad cinco veces mayor y los fascículos puramente motores incrementan su actividad en 10 veces. La utilidad de esta técnica se fundamenta en su rapidez, ya que los resultados pueden obtenerse en una hora.

2) METODO ELECTRODIAGNOSTICO

Dos tipos de datos pueden ser obtenidos mediante estimulación eléctrica de los fascículos. La estimulación de los fascículos proximales permite reconocer los fascículos sensitivos y la estimulación distal de los motores da lugar a una respuesta muscular, HAKSTIAN, 1968 (52). La estimulación de los fascículos motores proximales y distales sensitivos no se traduce en respuesta. Para medir la actividad sensorial de los

fascículos proximales, el test deberá realizarse con el paciente despierto, pero bajo anestesia local. Es necesario tener en cuenta que la estimulación distal deberá realizarse antes de que se haya producido la degeneración walleriana, HAKSTIAN, 1968 (52) y NAKATSUCHI et al, 1980 (104).

ABASTECIMIENTO SANGUINEO DE LOS NERVIOS

En los procedimientos quirúrgicos deben liberarse a veces los nervios de sus inserciones hasta ciertas distancias, y es importante saber si esta maniobra interferirá lo suficiente con su abastecimiento sanguíneo para producir lesiones graves dentro de los mismos. Por fortuna, los nervios son abastecidos por profusión de vasos que se anastomosan con libertad, como hemos visto al estudiar la vascularización de los nervios.

Los vasos son de varias categorías. Son arterias y arteriolas de disposición longitudinal de tipo epineural, interfascicular, perineural e intrafascicular. El endoneurio contiene una redcilla capilar.

Arterias nutricias penetran frecuentemente en el nervio a lo largo de todo su trayecto, procedentes de vasos extraneurales, y de vasos dispuestos longitudinalmente que acompañan al nervio, para comunicar con los vasos neurales. El número de

anastomosis entre todos estos vasos es tan considerable que los nervios pueden dejarse en largo trecho desprovistos de los tejidos que los rodean. Sunderland insiste en la importancia de conservar los vasos superficiales que acompañan longitudinalmente a los nervios cuando éstos se decortican, pues constituyen eslabones importantes del sistema que proporciona tales anastomosis eficientes.

NOMENCLATURA EN CIRUGIA DE NERVIOS PERIFERICOS

La aplicación de técnicas microquirúrgicas ha estimulado el desarrollo de la cirugía de nervios periféricos. Como el número de publicaciones sobre este tema se ha prodigado en los últimos tiempos, se puso de manifiesto que una gran cantidad de autores utilizaban, para definir estructuras y procedimientos, terminología no aceptada internacionalmente. Por este motivo la International Society for Reconstructive Microsurgery, decidió en 1979 unificar criterios y elaborar una nomenclatura internacional. Esta terminología fue finalmente aprobada en 1981 por el Executive Committee of the International Society of Reconstructive Microsurgery.

NEURILEMA: El término de neurilema fue descartado.

FIBRA NERVIOSA: Una fibra nerviosa consiste de: el axón, el axolema, la célula de Schwann y la vaina de la célula de Schwann con o sin mielina. En el caso de

fibras nerviosas mielinizadas hay un axón por célula de Schwann. Sin embargo, en el caso de fibras nerviosas no mielinizadas hay varios axones envueltos por una célula de Schwann.

VAINA ENDONEURAL: El término vaina endoneural se refiere a la membrana basal de la célula de Schwann por fuera de la vaina de mielina. La vaina endoneural es preservada durante la degeneración walleriana y puede encogerse o llegar a colagenizarse, si la reinervación no ocurre dentro de un cierto período de tiempo.

PERINEURO: El término perineuro representa la vaina de un fascículo individual. Se enfatizó la diferencia entre el término endoneural y endoneurial. Endoneural se refiere al espacio en el interior del fascículo. Endoneurial se refiere al endoneuro.

FASCICULO: El término fascículo se consideró adecuado, pero se prefirió el de funículo por razones histológicas.

MODELOS DE ESTRUCTURA INTRANEURAL: Se distinguieron cuatro modelos básicos:

- La sección transversal presenta un grueso fascículo.
- La sección transversal presenta unos pocos fascículos.

- El corte transversal presenta muchos fascículos ordenados en grupos.

- El corte presenta muchos fascículos de diferentes tamaños con y sin grupos ordenados.

Los diferentes modelos pueden ser descritos por el uso de prefijos en griego o latín.

* Monofascicular = unifascicular; para un grueso fascículo.

* Oligofascicular = paucifascicular; para pocos fascículos.

* Polifascicular = plurifascicular; para muchos fascículos.

EPINEURO: Este término se refiere al tejido conectivo del nervio periférico, que rodea los fascículos circunferencialmente. En la literatura quirúrgica, el término epineuro se refiere a la parte circunferencial, mientras el tejido más denso situado entre los fascículos era considerado separadamente. Se acordó el uso del término interfascicular para el tejido que se encuentra entre los fascículos. El tejido externo que rodea los fascículos se le denominó epifascicular.

Existe un acuerdo unánime, sobre el hecho de que la terminología utilizada para determinar los procedimientos quirúrgicos, es inadecuada y no permite la comparación entre las diferentes técnicas, para lo cual, se definieron los apartados de que debe constar toda descripción quirúrgica.

1.- PREPARACION DE LOS EXTREMOS. Esto puede incluir resección o disección interfascicular con separación de fascículos individuales o grupos. El modelo fascicular del segmento nervioso afectado debe de ser descrito.

2.- APROXIMACION. Es necesario describir cómo han sido aproximados los dos extremos nerviosos, la longitud del defecto, la cantidad de tensión existente y la posición de las articulaciones proximales durante la maniobra de aproximación. Asimismo, se hará constar, si el nervio ha sido traslocado o transferido para ser colocado en un lecho mejor, o para ganar espacio.

3.- COAPTACION. Con este término se describe la oposición de los correspondientes extremos terminales. El término anastomosis debe de ser omitido en la literatura nerviosa y su uso quedar restringido a las reparaciones microvasculares. En el presente toda coaptación debe quedar incluida en alguno de los siguiente apartados:

* Coaptación directa (neurorrafia)

- Cabo a cabo (troncular).

- Fascículo a fascículo (fascicular).

- Grupo fascicular a grupo fascicular (interfascicular).

* Coaptación indirecta (interposición de injerto nervioso)

- Tronco injertos

Tronco injerto libre.

Tronco injerto pediculado.

Tronco injerto con anastomosis
microvascular también denominado
injerto nervioso vascularizado.

- Injertos nerviosos cutáneos

a.- (Según el tipo de preparación de los cabos y coaptación).

- a.1 Sector del extremo : nervio cutáneo-sector del extremo (los extremos están preparados por resección).

- a.2 Grupo fascicular : nervio cutáneo-grupo

fascicular (injerto nervioso interfascicular) (los extremos están preparados por disección interfascicular).

-a.3 Fascículo : nervio cutáneo o fascículos aislados de un nervio cutáneo-fascículo (injerto nervioso fascicular) (los extremos están preparados por disección interfascicular).

b.- (Según el tamaño del fascículo).

-b.1 Fascículo grueso: varios nervios cutáneos en fascículo.

-b.2 Fascículo medio : un nerve-fascículo cutáneo.

-b.3 Fascículo pequeño: fascículos aislados de nerve-fascículos cutáneos.

El término "injerto cable" (cable graft) fue descartado. Este término se utilizó en el pasado, para describir técnicas consistentes en construir un tronco injerto combinando varios injertos nerviosos cutáneos.

4.- MANTENIMIENTO DE LA COAPTACION. La coaptación puede ser mantenida por medio de puntos de sutura, adhesivos, o por el coágulo de fibrina. En el caso de llevarse a cabo con puntos, debe indicarse el número, tamaño y material de éstos. Si se hace con adhesivos, habrá que indicar el tipo.

Para una perfecta descripción de cualquier reparación nerviosa, será necesario indicar: El sitio exacto y la extensión de la lesión; las características del lecho de la lesión; estado en que se encuentra la musculatura, los tejidos adyacentes y la piel que los cubre; el tiempo de intervalo entre lesión y reparación; el uso de torniquete y las especificaciones de su aplicación; el tipo, posición y duración de la inmovilización y la edad del paciente.

TECNICA DE MILLESI

Para realizar el injerto nervioso, considerando los puntos vistos previamente, Millesi, 1984 (97) ha descrito una técnica para la colocación del injerto.

- a) Obtención del injerto.
- b) Preparación del injerto.
- c) Preparación del lecho receptor.
- d) Colocación.

-.a) OBTENCION DEL INJERTO

Segun hemos visto , se utiliza como injerto un nervio cutáneo sensitivo siempre que nuestra actuación sea clínica, e indistintamente en el laboratorio. La

obtención del injerto no requiere ninguna maniobra especial, basta con aislar el nervio y seccionarle cuidadosamente.

-.b) PREPARACION DEL INJERTO

El injerto es seccionado en segmentos de pequeña longitud, pero suficiente para permitir coaptar con los dos extremos del lecho nervioso, sin tensión, una vez que la articulación proximal y distal al defecto, se encuentra en extensión, MILLESI, 1981 (96).

-.c) PREPARACION DEL LECHO

Se procederá en primer lugar a la exploración de ambos cabos de sección. Tras lo cual se realiza la extirpación del epineuro, proximalmente al cabo proximal y distalmente al distal. El epineuro es levantado y seccionado en una distancia de varios milímetros. Así se pueden observar perfectamente los grupos fasciculares y los espacios entre ellos. La disección continúa a este nivel aislando los fascículos y grupos fasciculares, WILLIAMS, 1979 (161) . Aquí es necesario puntualizar que la disección de los cabos terminales, en fascículos y grupos fasciculares, no es una disección artificial, sino que realmente existen fascículos agrupados en grupos fasciculares. La disección se continúa hacia los dos cabos y en el punto exacto en que la anatomía de los grupos fascioclulares comienza a ser normal, se realiza la sección del nervio, lo que evidentemente salva una gran cantidad de tejido a extirpar. El aislamiento de los

fascículos reduce considerablemente el peligro de que los fascículos de un injerto nervioso, puedan ser coaptados con tejido conectivo no fascicular.

-d) COLOCACION

Una vez realizada la identificación de los fascículos, se procede a la colocación de los diferentes injertos fasciculares. Estos se colocan siguiendo una dirección ortodrómica.

Un mínimo número de maniobras quirúrgicas, será necesario para conseguir la coaptación entre injertos y fascículos o grupos fasciculares, y para mantener esta coaptación es necesario recurrir a la utilización de algún medio que la asegure. Durante mucho tiempo se recurrió a la utilización de materiales de sutura convencionales, sin embargo, estos materiales siempre constituyen un agente extraño localizado en la zona de unión, que inevitablemente va a representar un obstáculo para la regeneración axonal. A este obstáculo mecánico hay que sumar la reacción que el propio material de sutura puede generar. VARA (1976) preconizó que la respuesta reactiva al material de sutura tenía lugar en dos fases: En la primera, había un predominio de invasión celular mientras que en la segunda existía un mayor porcentaje de fibroplastos y fibras conectivas. Es lógico, pues, utilizar aquel material que genere una menor reacción fibroblástica, pero que cumpla los requisitos postulados de resistencia, calibre y facilidad de manejo.

SUNDERLAND and SMITH, 1950 (143) aconsejaban la seda como el material más idóneo. SARGENT and GREEFIELD, 1919 (127) preferían el catgut, sin embargo, este material fue descartado debido a que cuando posee el calibre necesario para llevar a cabo pequeñas neurorrafias, es muy frágil. Durante la segunda guerra mundial comenzó a ser utilizado por SPURLING, 1944 (137) el tantalio, pero posteriormente otros autores, DAVIS, 1947 (37), LYONS, 1949 (78), HOEN, 1946 (57) y BOYES, 1964 (21) lo rechazaban por la grave reacción tardía a que daba lugar. Fue en 1968 cuando SUNDERLAND publicó los postulados que debería cumplir todo material de sutura:

- La reacción tisular a que debe dar lugar tiene que ser muy débil.

- La reacción tisular tiene que ser de corta duración.

- Debe de tener un fácil manejo y poder ser utilizable en filamentos delgados.

Aunque diferentes materiales cumplen estos requisitos, el nylon representa en el momento actual el material preferido por la mayoría de los autores, ya que se puede conseguir en filamentos muy finos 10/0 y 12/0, a la vez que resiste muy bien la tensión y produce poca reacción tisular. Sin embargo, presenta como inconveniente principal el no ser reabsorbible, lo que

da lugar a interferencias mecánicas en la zona de coaptación. Esto dió lugar a la utilización de materiales de sutura reabsorbibles. YAMASAKI and NOMA, 1983 (162), consiguieron excelentes resultados con la utilización de suturas de ácido poliglicólico.

Otros autores prefieren la utilización de técnicas que evitan la utilización de sutura. YOUNG and MEDAWAR, 1940 (164), realizaban la coaptación de los cabos nerviosos con coágulo plasmático. KLEEME et al., 1943 (70), sustituían el coágulo plasmático por goma de acacia. SINGER, en 1945, proponía la utilización de fibrinógeno impregnado posteriormente de trombina. Este método fue ensayado por CRUZ et al., 1986 (34), obteniendo desalentadores resultados. Posteriormente FREEMAN en 1946 introdujo la utilización de tubos adhesivos de microporos. VARA, 1976 (155), utilizaba pegamentos de cianocrilato para conseguir la adhesión. FISCHER, 1985 (46), publicó un método revolucionario para realizar la "sutura" nerviosa, utilizando para ello un laser de anhídrido carbónico.

A pesar de todas estas tentativas, encaminadas a conseguir el material más idóneo, el nylon continúa siendo el material por excelencia.

El número de puntos de sutura ha constituido otro de los puntos de discrepancia entre los diferentes autores. Mientras autores como MILLESI, 1984 (97), no veían necesario utilizar más de un punto, otros como GUEGAN and PECKER, 1979 (49), aconsejaban la utilización

de 6 puntos.

En lo que sí se ha conseguido un acuerdo, es en el tema de la colocación de los puntos. Estos deben de ser introducidos entre los fascículos del injerto, tomando el epineuro interfascicular. El mismo punto es anclado en el cabo proximal y puede ser anclado en el remanente epineuro interfascicular, entre los fascículos o en el perineuro de un fascículo, MILLESI, 1981 (96). Al apretar el punto el injerto se aproximará al cabo proximal. Si el punto está bien colocado, es posible conseguir una buena coaptación entre injerto y cabo proximal, si esto no sucede, es necesario colocar otro punto diametralmente opuesto.

El injerto nervioso se extiende hasta contactar con el cabo distal. Si fuese muy largo, se secciona a la medida adecuada. Mediante puntos de sutura colocados igualmente que en el cabo proximal, se fija el injerto al cabo distal. La coaptación será mantenida por el coágulo de fibrina y asegurada por los puntos de sutura.

Una maniobra de gran utilidad consiste en realizar la individualización y sección de los fascículos en ambos extremos, pero practicando la sección de cada fascículo a un nivel. De esta forma al coaptar cada uno de los fascículos, se producirá una auténtica interdigitación que favorece la estabilidad lateral de los injertos. A su vez, impide que las suturas de los diferentes fascículos puedan coincidir,

favoreciendo la creación de fibrosis.

Las técnicas de injertos deben, en cada momento, ajustarse a los esquemas fasciculares de los segmentos nerviosos afectados.

En el esquema monofascicular, la sección transversal se compone de un gran fascículo. En este caso, la relación de tejido fascicular y no fascicular está claramente inclinada en favor del tejido fascicular. La resección de epineuro no será necesaria. Sin embargo, para satisfacer el calibre del fascículo se requerirán varios segmentos de nervio cutáneo.

Si el esquema es oligofascicular, el nervio se caracteriza por tener varios fascículos gruesos. Si los fascículos tienen aproximadamente el mismo tamaño que el injerto nervioso, un fascículo puede ser unido con un injerto nervioso, después de la sección por disección interfascicular.

El esquema polifascicular presenta en un corte transversal muchos fascículos de diferentes tamaños. En este caso, la relación entre tejido fascicular y no fascicular se inclina a favor del tejido no fascicular; los fascículos están en algunos casos difusamente distribuidos en el corte transversal, y otras veces están agrupados en bloques.

Se pueden diferenciar de la siguiente manera:

- Un esquema polifascicular sin formación de grupos.

- Un esquema fascicular con formación de grupos.

El esquema polifascicular con formación de grupos, es común en la periferia de los nervios periféricos. Realizando una disección en este espacio entre los grupos de fascículos, éstos pueden ser divididos en segmentos separados, MILLESI, 1981 (96).

El esquema de grupos fasciculares permanece constante durante longitudes superiores al de los fascículos separados.

A pesar de todo lo anteriormente expuesto, los injertos nerviosos siguen presentando serias limitaciones, fundamentalmente cuando medimos los resultados por el grado de recuperación funcional conseguida. Esta limitación se hace más ostensible con la utilización de injertos autólogos, ya que existen una serie de circunstancias que condicionan su utilización:

- La regeneración nerviosa debe de atravesar dos zonas de coaptación, en las que potencialmente se va a producir una fuga axonal, a esto hay que añadir el obstáculo mecánico que representan los puntos de sutura.

- No siempre tenemos injertos autólogos de la longitud requerida.

- El tratamiento reparador de nervios muy ramificados, como el facial, no cuenta con injertos autólogos específicos.

- Se requiere una intervención adicional para extraer el injerto.

- Siempre se da lugar a un déficit funcional al extraer un nervio de su origen anatómico.

- La distribución entera del neurolema nunca se reemplaza de forma exacta.

Por todo ello, son muchos los autores que han centrado sus pasos en el campo de los injertos homólogos. Si bien, éstos no deben de ser todavía realizados en seres humanos, ya que necesariamente darían lugar a un proceso de rechazo inmunitario. La utilización de injertos homólogos se ha desarrollado de forma prioritaria en animales, consiguiéndose mejores resultados en aquéllos que presentan un mayor grado de isogenicidad.

Fue en 1870 cuando PHILIPPEAUX and VULPIAN (112), publicaron sus experiencias, demostrando la capacidad de las fibras nerviosas para crecer a través de un injerto nervioso. Posteriormente ALBERT en 1878 (6) refirió haber realizado un injerto homólogo extraído de un miembro amputado, para reparar un defecto de un nervio mediano. Trabajos posteriores de SPURLING et al.,

1945 (137), DUCKER and HAYES, 1970 (39), SINGH, 1976 (134), apuntaban la posibilidad de que injertos homólogos de longitudes superiores a 3 centímetros, podrían sobrevivir bajo condiciones experimentales. SINGH et al., 1977 (136), afirmaban que injertos de gran longitud fallaban irremisiblemente, ya que en ellos se producía un proceso inflamatorio difuso, que desencadenaba la formación de fibrosis. Esta afirmación era acorde con las opiniones de SEDDON and HOLMES, 1940 (131), MARMOR et al., 1967 (93), DUCKER and HAYES, 1970 (39), BUCKO and STEINMULLER, 1974 (26), las más recientes de SUNDERLAND, 1978 (139), y ZALEWSKI and SILVERS, 1980 (171) y (172).

En función de los resultados obtenidos con la utilización de nervios homólogos y basándose en el hecho aceptado de que la respuesta inmunitaria era la responsable del fracaso de estas estructuras, SANDERS and YOUNG, 1942 (126), manifestaron que la posible utilización de este tipo de injertos, debería de ir unida a una prevención de la reacción inmunitaria. De lo contrario, la reacción inmunitaria destruiría el constituyente celular del injerto. Los vasos sanguíneos que habían crecido en el injerto, procedentes del huésped, se rompían dando lugar a una situación de isquemia que iba a propiciar la aparición de un proceso fibrótico. La severidad y rapidez de este proceso dependerá de la cantidad de tejido transplantado y de la relación genética existente entre el donante y el huésped.

A raíz de estos acontecimientos muchos autores permanecieron partidarios a la idea de la utilización de injertos homólogos, por lo que comenzaron a prosperar diferentes técnicas, cuyo fin era eliminar el proceso inmunológico.

La utilización de injertos "predegenerados" es decir, injertos en los que se había producido el proceso de degeneración walleriana, ya había sido promulgada por numerosos autores antes de 1942 : TELLO, 1911 (147); RAMON Y CAJAL, 1928 (28); DUEL, 1936 (40); BENTLEY and HILL, 1936 (17). Para ellos el proceso de degeneración walleriana contribuía a vaciar los tubos de Schwann, lo que facilitaba teóricamente el proceso regenerador. Estas teorías no eran compartidas por HUBBER, 1920 (61), BUNNELL and BOYES, 1939 (20) y (21). Sin embargo, estos autores utilizaban el proceso de predegeneración para los injertos autógenos. La idea se consideró positiva y se llevó a la práctica con injertos homólogos, teorizando sobre la posibilidad de que además de "favorecer" la regeneración, el proceso de degeneración les hubiese hecho más inmunotolerantes. Para LEWIS and McLAURIN, 1966 (75), la predegeneración mejoraba el retorno funcional. DAS GUPTA, 1967 (35), indicaba que eran necesarias seis semanas de degeneración walleriana para hacer a un injerto homólogo aceptable. Posteriormente DUCKER and HAYES, 1970 (39), en trabajos realizados sobre perros, exponía que la degeneración no favorecía en nada al injerto homólogo.

Acontecimientos clínicos previos, llevados a

cabo con injertos óseos homólogos irradiados, junto con la información obtenida en la utilización de injertos tendinosos homólogos irradiados, sugirieron la posibilidad de utilizar las radiaciones, como un método para reducir la intigenicidad de los injertos nerviosos homólogos, evitando así, la reacción de rechazo. MARMOR, 1964 (89), llevó a cabo una serie de experiencias con nervios ciáticos de ratas, que una vez extirpados eran congelados a -12 grados Fahrenheit y posteriormente irradiados. Estos nervios eran colocados posteriormente en animales diferentes. A la vez, utilizaba injertos homólogos sin irradiar como lote testigo. MARMOR pudo comprobar, como en aquellos injertos en los que se había realizado la irradiación, no se producía reacción de cuerpo extraño, mientras que en los injertos homólogos sin irradiar, ésta era muy importante.

SINGH et al., 1977 (136), llevaron a cabo una serie de experiencias similares a las de MARMOR. Para ello, utilizaron dos grupos de perros Littermate. En uno de ellos, realizaron injertos nerviosos homólogos previamente congelados a -70 grados centígrados, en el otro utilizaron también injertos congelados, pero estos a su vez, eran sometidos a la acción de radiaciones (1.66 Mrad durante 10 segundos en un generador de Van der Graaff). SINGH et al. llegaron a la conclusión de que, tanto la congelación como la irradiación de injertos nerviosos, tendía a disminuir la inmunogenicidad en algún grado, pero no lo suficiente para alcanzar una protección total y consideraron que era necesario una buena histocompatibilidad de tejidos,

para conseguir resultados aceptables con injertos homólogos.

ZALEWSKI and GULATI, 1982 (170), basándose en los trabajos de SINGH et al., 1977 (136), llevaron a cabo experiencias similares, utilizando ratas en lugar de perros y sometiendo a los injertos nerviosos, unicamente a congelación a -70 grados centígrados. Sus resultados fueron diametralmente opuestos. Para ZALEWSKI y GULATI la regeneración axonal a través de un nervio congelado no tenía lugar, debido a la destrucción que en las células de Schwann se producía y a que la congelación no era capaz de producir estados de inmunotolerancia.

MIRA, 1984 (99), publicó sus resultados sobre los efectos de la ultracongelación en segmentos nerviosos de ratas, y las características del proceso regenerador que en ellos tenían lugar. Para MIRA, los axones y sus vainas de mielina sufren cambios irreversibles, sin embargo, la organización del tejido conectivo y los vasos sanguíneos, no parecen ser afectados. La lámina basal que rodea las fibras, tanto mielinizadas, como no mielinizadas, permanece intacta a través del segmento congelado.

El comportamiento de los nervios periféricos congelados, fue estudiado por HONG-CAI-DING et al., 1985 (60). Estos autores basaron sus experiencias en la congelación de segmentos nerviosos de nervio facial de conejo, sometidos a la acción de diferentes temperaturas

(-15, -40, -100, y -180 grados centígrados). Pudieron observar, que la recuperación funcional, tras la congelación a cualquier temperatura se llevaba a cabo en las dos semanas siguientes, sin que la temperatura hubiese influido.

Al comienzo de la pasada década, JACOBY et al., 1970 (67) y (68), publicaron los resultados obtenidos con transplantes nerviosos de cadaver desanteginizados mediante liofilización. En una publicación posterior (1972), reseñaron un 84% de retorno de función en 57 pacientes tratados, en los que el defecto nervioso oscilaba entre 4 y 8 cm. Desde las experiencias de JACOBY et al. (1970), los injertos nerviosos cobraron un gran impulso, llegando incluso a ser comercializados (Braun Melsungen). Este tipo de injertos, ha estado sometido a cierta controversia, atravesando etapas en que su utilización se hizo habitual, con otras en las que fue contraindicada por inútil. KUHLENDahl et al., 1972 (73), referían ocho casos en los que habían utilizado nervios liofilizados y en los que tras un año de la cirugía no habían encontrado signos de regeneración. SINGH and DE LANGE, 1975 (135), publicaron sus experiencias con este tipo de injertos; les habían utilizado en 18 ocasiones y para pontear diferentes defectos nerviosos consiguiendo buenos resultados en un 32%.

Otros autores, ZALEWSKI and GULATI, 1984 (170), utilizaban injertos homólogos en ratas, e intentaban mantener éstos ajenos a la reacción

inmunitaria mediante la utilización de inmunosupresores (Ciclosporina A). Con este método, los resultados obtenidos eran muy satisfactorios, sin embargo, contaban con un serio problema: cuando cesaba la administración de Ciclosporina, se producía el rechazo del nervio.

REGENERACION DE LOS NERVIOS SECCIONADOS QUE SE UNEN DE NUEVO POR MEDIOS QUIRURGICOS.

Si se secciona un nervio periférico, la acción muscular de la parte del cuerpo que éste abastece y la recepción de la sensibilidad de ese sitio no se pierden de manera necesaria para siempre. Si los dos extremos seccionados del nervio se unen y sujetan en su sitio mediante puntos a través de sus envolturas de tejido conectivo, o se sostienen unidos por algún otro medio, al menos se puede restablecer en la zona afectada una parte de la función después de un período prolongado.

En la parte del nervio distal a la sección las fibras nerviosas de las neuronas aferentes y eferentes están, desde luego, seccionadas de sus cuerpos celulares, de modo que mueren y se vuelven necróticas. La desintegración de los cilindroejes requiere sólo un tiempo breve, y en unos cuantos días queda un poco de desecho celular en el espacio que ocupaba antes el cilindroeje. Las vainas de mielina de esos cilindroejes que son seccionadas desde sus cuerpos celulares se

descomponen también. La mielina se destruye con mucha mayor lentitud que el material del cilindroeje, pero pronto queda reducida a gotillas. Las células de las vainas de Schwann proliferan y se cree que forman cordones que se encuentran en los tubos endoneurales. Los macrófagos del endoneurio fagocitan y digieren las gotillas de mielina desdoblada y los residuos de los cilindroejes muertos.

Después de la fagocitosis de estos desechos, los fibroblastos, en particular los que están cerca del sitio en el que está cortado el nervio, proliferan, pero a menos que el sitio del corte se haya infectado, no suelen proliferar con tanta rapidez como las células de la vaina de Schwann, que en este sitio hacen protrusión desde los extremos cortados de los tubos endoneurales del muñón distal, y también, aunque no con tanta rapidez, desde los tubos endoneurales del muñón proximal. Los espacios con forma de hendidura entre la vaina proliferativa de las células de Schwann ofrecen un medio para que las fibras nerviosas se abran paso a través del hueco desde el muñón proximal hacia el distal.

En tanto ocurren todos estos cambios del nervio distal al corte, ocurren cambios también en el muñón proximal. Cerca de la región de corte los axones degeneran al principio. Como ya se ha señalado, las células de la vaina de Schwann proliferan y crecen hacia el interior de nuevo y se unen con las del muñón distal. Así, se establece continuidad a través del corte gracias

a las células de la vaina de Schwann, y como ya se observó, estas células tienen hendiduras entre ellas dispuestas de manera longitudinal.

Los cilindroejes de la porción proximal del nervio seccionado empiezan ahora a abrirse paso hacia adelante, un poco cada día, y después de unos cuantos días llegan al espacio en el que había unión entre las dos salientes de las células de la vaina de Schwann. Los cilindroejes, al crecer hacia esta distribución con forma de laberinto a menudo se ramifican mucho, y las diversas ramas se abren camino a través de dichas hendiduras y espacios según los encuentren; antes de que pase mucho tiempo, gran número atraviesan la región del corte, y desde ahí crecer a lo largo de las vías minúsculas que existen en el sinsicio proporcionado por las células de la vaina de Schwann hacia las aberturas de los tubos endoneurales del muñón distal. Estas, aunque se han hecho más pequeñas, siguen abiertas. Bajo buenas condiciones las fibras crecen por estos tubos a un ritmo que ha sido estimado de manera variable entre 1 y 4 mm. por día. Conforme se aproximan a la terminación del nervio, crecen con un poco más de lentitud.

Debe observarse que no importa lo cuidadosamente que se unan entre sí los nervios seccionados, pues no podría esperarse que la mayoría de los cilindroejes que crecen encuentren el camino adecuado. Parece increíble que en estas circunstancias se recuperen la función motora eficiente y la sensibilidad razonablemente buena en una parte del

cuerpo después de haberse seccionado el abastecimiento nervioso. De todas maneras, a menudo se obtienen buenos resultados con la unión de los nervios seccionados. Quizá ayude bastante que los cilindroejes, al llegar al sincitio de la vaina de Schwann que se forma en el sitio del corte se ramifique en muchas ramas. De aquí que haya más cilindroejes en realidad creciendo a través del nervio seccionado que los que había antes. A veces entran varios en un tubo endoneural; quizá sólo sobreviva el que debe encontrarse allí.

En un tubo endoneural el axón nuevo se encuentra contra un cordón de células de Schwann. Estas últimas lo envuelven de manera gradual, pero probablemente de manera muy semejante a como ocurre durante el desarrollo normal. Se forma a continuación mielina nueva, probablemente del mismo modo que durante el desarrollo, y las células de Schwann con forma de cordón adoptan una vez más su aspecto maduro.

En algunos tipos de lesiones, puede quedar destruida una región de nervio. En tales condiciones, resulta imposible aproximar los cabos y hay que recurrir al denominado injerto nervioso. Para ello se extirpa un segmento de un nervio superficial menos importante y se coloca en posición adecuada para restablecer la continuidad del nervio lesionado. Después del injerto autógeno, las células de la vaina de Schwann del nervio injertado sobreviven y proliferan. Por lo tanto, en este sentido, el injerto actúa a modo de segmento distal. Sin embargo, aunque las células de la vaina de Schwann

proliferan en los dos extremos del nervio cortado, para unirse con los fragmentos distal y proximal del nervio cortado, claro está que en estas circunstancias los axones tienen que abrirse paso a través de dos laberintos en lugar de uno sólo. Se comprende, pues, que los resultados de un injerto de nervio no sean siempre tan buenos como los que se logran uniendo directamente los dos cabos del nervio seccionado.

BASES BIOLÓGICAS DE LOS INJERTOS NERVIOSOS AUTOLOGOS

Los fenómenos biológicos que regulan el comportamiento de los injertos nerviosos, han permanecido hasta hace prácticamente una década dentro de un desconocimiento casi absoluto, convirtiendo en empirismo todo lo que sobre ellos se debatía.

OLLSZEWSKI, 1981 (110), refiere que la única ventaja aportada por un injerto a los axones que desde el extremo distal proliferan, la de poner a su disposición los tubos endoneurales llenos de células de Schwann proliferantes para permitir así el crecimiento de los axones hacia el cabo distal y hacia los órganos periféricos. Se comporta pues como el mismo tipo de tubo que un axón puede encontrar en el cabo distal. Todo ello es debido a que el injerto nervioso, al ser desprendido de su origen, sufre un proceso de degeneración walleriana similar al del cabo distal. Esta particularidad ocurre incluso en los injertos nerviosos vascularizados. KOSHIMA y HARII, 1985 (71), demostraron

que si bien los injertos vascularizados se ven afectados por el proceso de degeneración walleriana, la regeneración a través de ellos se hace de una forma más rápida.

NUTRICION DE UN INJERTO NERVIOSO

Con la excepción hecha de los injertos nerviosos vascularizados, los injertos libres y principalmente los fasciculares suponen un elemento privado de toda conexión vascular que se interpone entre dos cabos de sección. Sin embargo, a partir de vasos vecinos y de las yemas vasculares que existen en ambos extremos, tiene lugar una auténtica revascularización que da lugar a la formación de un patrón vascular efectivo. VILLAS, 1980 (158), HASSLER, 1969 (54), fijan la fecha de esta vascularización a partir del décimo día. ALMGREN, 1974 (8), opina que en los injertos autólogos la revascularización comenzaba a producirse a partir del tercer día de la intervención.

ALOTRASPLANTE VIVO

En el momento del injerto. Este tipo de alotrasplante se comporta como el autotrasplante, TERZIS, 1987 (148).

Aparece una degeneración walleriana y los brotes de los axones atraviesan el lado proximal y comienza a neurotizarse el injerto. Los brotes axónicos

se ponen en contacto con las células de Schwann vivas, en el autoinjerto. Después de un cierto período de tiempo aparece una reacción contra el alotrasplante siendo más o menos reemplazado por tejido fibroso, BARNES, 1946 (14) y BLACKWOOD, 1955 (19).

Esta reacción de tipo inmunológico es un rechazo contra el injerto como acontece en otros tejidos. Diversos autores han investigado el mecanismo productor de este rechazo.

DAS GUPTA, 1967 (35) y EDIDIN, 1971 (43), creen que la formación de anticuerpos es principalmente causada por la mielina del alotrasplante, siendo la estructura antigénica más importante en el proceso de rechazo. LEVINTHAL 1978 (74), observa una fuerte reacción contra el epineuro. Sin embargo contra los fascículos aislados esta reacción era mínima. Sugiriendo que el epineuro es el principal factor para la formación de anticuerpos.

NIGST en 1957 (106), utilizó cortisona con el objeto de retardar la aparición del rechazo en trasplante de nervios utilizando el conejo como animal de experimentación; con la esperanza de que el rechazo apareciera una vez que el nervio estaba regenerado, no dando resultado. Otros intentos con tratamientos inmunosupresores, MARMOR, 1970 (85) y POLLARD, (113), tampoco han dado resultado.

En 1982, MACKINNON (81) investiga la respuesta

celular y humoral del alotrasplante nervioso periférico.

BAINBRIDGE, 1966 (11) y ROTSTEIN, 1980 (121), mediante la utilización del test de liberación de Cr 51 evaluaron la respuesta inmunológica relacionándola con el grado de diferencia de los antígenos de histocompatibilidad.

Cuando el donante y el huésped tienen unas diferencias muy pequeñas, la respuesta humoral se ve claramente retardada; pero no hubo diferencia en la respuesta celular, la cual consistió principalmente en fibrosis del epineuro e infiltración de linfocitos y macrófagos en los fascículos.

En animales con diferencias MAYORES en la histocompatibilidad, la reacción celular comenzó en el día 5; consistiendo en un infiltrado celular del epineuro. El perineuro pareció actuar como una barrera. Hubo inflamación del endotelio de los vasos endoneurales. En el octavo día también se añadió un infiltrado del endoneuro por linfocitos. Finalmente, sobre el día 40, el epineuro se transformó en una cicatriz habiendo únicamente unas pocas células inmunológicamente activas en los fascículos.

Cuando las diferencias de histocompatibilidad fueron MENORES (por ej. entre ratas Fisher y Lewis), la reacción inmunológica duró mucho más tiempo. Considerando el último ataque y la mayor duración de la respuesta humoral y basándose en estudios con Cr 51,

estos autores sugieren lo siguiente:

Con diferencias menores en la histocompatibilidad, la precoz respuesta celular en estos animales (la cual ocurre en el mismo tiempo que aparece la misma en animales con diferencias mayores de histocompatibilidad) es producida por células inmunológicamente inmunocompetentes.

Más tarde, de acuerdo con MACKINNON 1982 (81), esta respuesta precoz pero con células inmunológicamente menos activas, nos proporciona la oportunidad de una regeneración del injerto antes de que la reacción por células más activas aparezca. Si pudiéramos, mediante selección antigénica de donante y huésped, hacer que apareciera la respuesta al injerto de una manera retardada y además tuviéramos tratamiento inmunosupresor adecuado sin riesgo para el paciente, se abriría una nueva era en relación con el trasplante de nervios.

Con respecto al TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR, hemos de decir que la ciclosporina A ha demostrado ser efectiva en la prevención del rechazo en una amplia variedad de alotrasplantes tanto en animales como en el hombre, ZALEWSKI A.A., 1984 (168). Esta droga nos ofrece la ventaja de provocar una inmunosupresión específica, con una actividad relativamente selectiva, ya que reduce la inmunidad mediada por las células T y el rechazo, probablemente a través de una disminución en la producción o liberación de interleukina 2 MACKINNON, S.E. 1987 (80).

ZALEWSKI y GULATI, 1981 (167) y 1984 (168), muestran como mejora la regeneración nerviosa en ratas Lewis / Brown-Norway tratadas de forma continua con ciclosporina A, apareciendo alto grado de rechazo unicamente en aquellos animales que no fueron tratados. Por otra parte, el cese del tratamiento con esta droga hizo que los aloinjertos fueran rechazados. Sin embargo, MACKINNON, S.E. 1987 (80), demuestra que en el animal inmunodeprimido muchos axones se regeneraron a través del aloinjerto nervioso y que el cese del tratamiento inmunosupresor no conllevó rechazo.

TIPOS DE INJERTOS NERVIOSOS AUTOLOGOS

1.) Injertos nerviosos totales

2.) Injertos "cable"

3.) Injertos interfasciculares

-1.) INJERTOS NERVIOSOS TOTALES

Se denominan así, por estar compuestos de todas las estructuras del nervio.

Solamente pueden llevarse a cabo en el caso de finos injertos, siempre menores de 5 mm. de diámetro. En caso contrario, las partes centrales del injerto sufren un proceso de isquemia y necrosis, que subsecuentemente se transforma en una pérdida de los tubos endoneurales.

Sólo los fascículos periféricos logran sobrevivir, BRUNELLI, 1979 (25) ; MILLESI, 1981 (95).

Para suplir estos defectos, STRANGRE, 1947 (138), introduce el injerto nervioso pediculado, el cual mantiene su suplemento sanguíneo durante la transferencia. Esta técnica sólo puede ser aplicada en pacientes que han sufrido simultáneamente lesión de dos nervios. De esta manera uno de los nervios era reparado a expensas del otro.

TAYLOR and HAM, 1976 (146), proponían una moderna modificación a este método, realizando injertos nerviosos vascularizados, con anastomosis microvasculares. De esta forma parecía resolverse el problema de la recuperación axonal en largos injertos, o en injertos nerviosos colocados en zonas pobremente vascularizadas.

KOSHIMA and HARII, 1985 (72), referían excelentes resultados utilizando nervios ciáticos vascularizados de ratas, al ser trasladados a zonas de quemaduras y demostraban la superioridad de éstos sobre injertos libre no vascularizados al presentar los primeros un proceso regenerador más precoz y una mayor regeneración axonal.

Sin embargo, a este nivel existen problemas de utilización clínica, ya que el único nervio que es fácilmente utilizable es el radial superficial y éste es bastante delgado, por lo cual se necesitarán varios

injertos nerviosos libres para poder suplir un tronco nervioso.

Una nueva solución se promulgó para hacer frente a este contratiempo; consistía en la aplicación de segmentos de nervios superficiales sensitivos, los cuales tienen una buena capacidad para sobrevivir libres, dado lo delgado de su diámetro. Sin embargo, tienen en su delgado diámetro un inconveniente para su utilización, en virtud de las diferencias de calibre entre el tronco y el injerto.

-.2.) INJERTOS "CABLE"

Este tipo de injerto surgió como una solución ante los problemas que presentaban los injertos libres. Varios segmentos nerviosos cutáneos se combinaban para formar así un injerto cable del mismo tamaño que el del nervio a reparar. Estos segmentos eran suturados o pegados juntos para formar el injerto cable, YOUNG and MEDAWAR, 1940 (164).

De esta forma los injertos "cable" eran utilizados como injertos "tronco" o completos, con coaptación de tronco con tronco, con todas las desventajas que ello suponía, MILLESI, 1981 (96).

Conviene puntualizar aquí, que el tejido conectivo epineural es la principal fuente para la proliferación de tejido conectivo en el lugar de coaptación. La presencia de un alto porcentaje de tejido

conectivo interfascicular, incrementa las posibilidades de un mal alineamiento de los axones. La extirpación de este tejido y la reparación de los fascículos o grupos fasciculares, reduce las posibilidades de mal alineamiento. MILLESI, 1984 (97), opinaba que no era necesario realizar injertos tronco, como se realizaba con los injertos "cable", ya que de esta forma se acumulaba una gran cantidad de tejido epineural epifascicular favoreciendo la malalineación, por el contrario, presenta mejores resultados la utilización de injertos obtenidos de nervios cutáneos, transplantados individualmente.

-.3.) INJERTOS NERVIOSOS INTERFASCICULARES

La aparición de los injertos interfasciculares, aportó una nueva posibilidad ante las necesidades clínicas que se presentaban en los casos de defectos nerviosos, en grandes troncos (radial, cubital, mediano). Estos nervios son, con toda seguridad, los más dañados a nivel periférico y presentan una estructura polifascicular con grupos, en los que los fascículos eran englobados. La diferencia básica con la técnica de los injertos "cable", radica en el hecho de no intentar formar un cable con los fascículos o grupos fasciculares. Muy por el contrario y mediante disección microquirúrgica, los dos cabos del nervio lesionado eran divididos en sus grupos fasciculares. En un segundo paso, los segmentos de los nervios cutáneos tomados como injertos, son mediante disección microquirúrgica, separados en sus fascículos o grupos fasciculares, una

vez eliminado el epineuro epifascicular. Estos fascículos o grupos ya liberados, son contactados con los diferentes fascículos o grupos fasciculares en uno u otro extremo.

Ante la necesidad de realizar un injerto nervioso fascicular, es absolutamente necesario contar con unos conocimientos precisos sobre las características de los mismos.

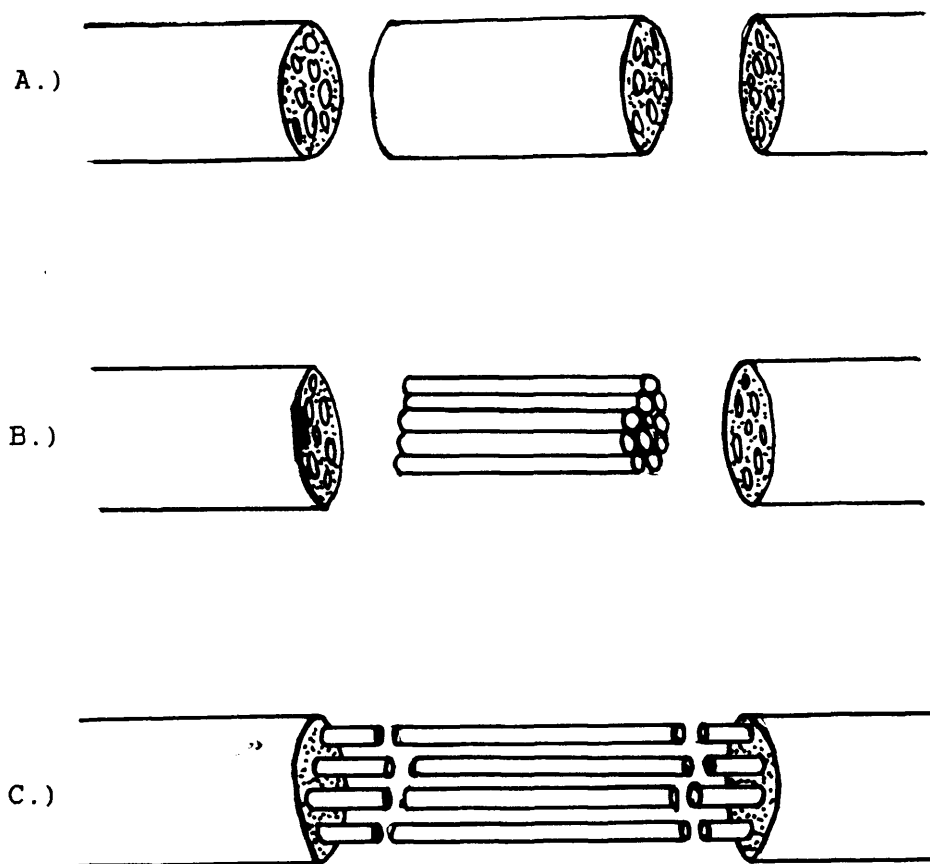


FIG.10: Representación esquemática de los diferentes tipos de injerto nervioso: a.) Injerto completo; b.) Injerto "cable"; c.) Injerto fascicular.

LA RATA COMO ANIMAL DE EXPERIMENTACION

Los animales de laboratorio representan una ayuda fundamental en el terreno de las Ciencias Experimentales, sin los cuales no hubieran sido posibles muchos de los conocimientos actuales. Esto es particularmente cierto en campos como Biología y la Medicina, donde han jugado un papel básico en la profundización del conocimiento del organismo vivo.

Al contar hoy en día con instalaciones apropiadas a las condiciones fisiológicas de cada especie, se han obtenido unos animales más sanos y menos afectados por la cautividad, lo cual redundará en un beneficio para la investigación. Con esta mejoría en las condiciones de salubridad del animal se ha logrado hacer más fiables los resultados obtenidos en los experimentos.

También es preciso contar con una población experimental lo más homogénea posible respecto a su edad, sexo, raza, condiciones de mantenimiento y cría previas a la prueba, etc., normalizando así las condiciones experimentales y eliminando al máximo la variabilidad individual, para evitar que se artefacten los resultados obtenidos de un experimento diseñado y realizado correctamente.

Existe una larga lista de animales empleados en experimentación biomédica, aunque los más frecuentemente usados son el mono, el perro, el gato, el

conejo, el hamster, el cobayo, el ratón y la rata. Esta última será objeto detallado de este estudio.

En casi todas las especies, pero sobre todo en roedores, y concretamente en la rata, existe una gran variedad de razas y cepas logradas por el hombre por métodos de selección artificial, consiguiendo así ciertas características en estos animales que les hacen más adecuados que otros para ciertos experimentos.

Los roedores son, según VAQUERO, 1988 (154), por sus características, especies muy utilizadas en experimentación biológica, ya que su coste es muy reducido, son de fácil manejo y mantenimiento en cautividad, precisan de instalaciones relativamente sencillas y pequeñas, son muy prolíficos y alcanzan el estado adulto en poco tiempo.

Otros animales de laboratorio más voluminosos como gatos, perros, cerdos, monos, etc., no se utilizan rutinariamente en los Laboratorios, sino para ensayos más específicos, ya que son menos prolíficos, su época de celo es más corta y los períodos de gestación más largos, son de mayor talla, más longevos y precisan un mantenimiento y estabulación más complejo.

La selección de una especie animal para un experimento depende, en la mayor parte de los casos, de la naturaleza del experimento en sí. Así, por ejemplo, la rata es muy útil para la práctica de técnicas de Microcirugía, pues posee un mapa vascular muy adecuado a

la realización de éstas. Del mismo modo, la rata y el conejo son recomendables para la realización de técnicas de Microcirugía nerviosa en el nervio ciático, como es el caso de el estudio en cuestión.

Por su parte, el perro es idóneo para practicar reimplantes de extremidades, colgajos y suturas de sus nervios cubital y tibial, dada su similitud con los nervios periféricos humanos. El pollo se utiliza para las prácticas de sutura tendinosa con el uso del microscopio. El mono y el cerdo se utilizan por su similitud metabólica con el hombre. El gato se emplea en la práctica de ensayos de actividad cardiovascular.

Ciñéndonos al objeto de este estudio, empezaremos diciendo que la rata de laboratorio deriva de la rata salvaje marrón o "Rattus Norvegicus". Dos de las razas más comunes de ratas albinas son la Sprague-Dawley y la Wistar-Lewis, las cuales son bastante mansas. Las ratas Long-Evans son generalmente blancas y negras o marrones y blancas; también son llamadas ratas encapuchadas y son más agresivas y un poco menos dóciles que las albinas. Las ratas de laboratorio son simpáticas, dóciles e inteligentes, pero algunas personas tienen fobia a estos animales. Son más amistosas que el ratón, aunque si se les provoca, pueden morder. Cada año por lo menos diez millones de ratas son utilizadas en la investigación biológica.

Taxonomicamente la rata de laboratorio la podemos clasificar como:

- Clase: Mammalia.
- Subclase: Theria.
- Infraclasse: Eutheria.
- Orden: Rodentia.
- Suborden: Myomorpha.
- Superfamilia: Muroidea.
- Familia: Muridae.
- Subfamilia: Murinae.
- Género: Rattus.
- Especie: Norvegicus.

La rata noruega (*rattus norvegicus*) se viene usando en el laboratorio desde hace muchos años, de hecho es el primer animal domesticado primariamente con un propósito científico, segun un estudio de la Universidad de Harvard de 1983 (9). La rata común fué primero un comensal del hombre. La primera rata que arribó a Europa fué la R. Rattus (rata negra, de casa ó de barco) con las hordas que invadieron Europa desde el Este. Parece tener un origen en la región este del lago Baikal.

ANATOMIA DEL NERVIO CIATICO DE LA RATA

El plexo sacro de la rata es más limitado en la extensión de su origen que en el hombre. Esta formado por parte del cuarto nervio lumbar, el quinto y parte del sexto. Da salida a dos grupos de nervios, un tronco anterior (ventral) y otro posterior (dorsal) que consolidan en la pelvis como nervio ciático.

Este tronco nervioso que es el nervio ciático sale de la pelvis por la escotadura ciática y pasa bajo el músculo glúteo mediano y apoyado sobre los gemelos pelvianos y obturadores, luego de encontrarse al músculo piriforme.

Este tronco común a menudo está dividido poco después de su origen en dos ramas terminales principales, el nervio tibial y el nervio peroneal.

Tras la división ó incluso antes, el ciático pasa sobre los músculos adductores y semimembranosos, delante del semitendinoso y cubierto por el músculo abductor craneal corto y biceps femoral.

A nivel de la región crural posterior se descubren los nervios tibial y peroneal agrupados en un tronco común junto al nervio sural, rama alta del nervio peroneal, que le acompaña en su trayecto. Este tronco común da el aspecto macroscópico de tronco único, como se ve en la fotografía adjunta. Estos nervios recorren unidos el muslo en toda su longitud, para separarse en la parte alta de la región poplitea, aunque a veces lo hace más proximal.

Todo ello aparece ilustrado en las figuras adjuntas, tomadas de BARONE.

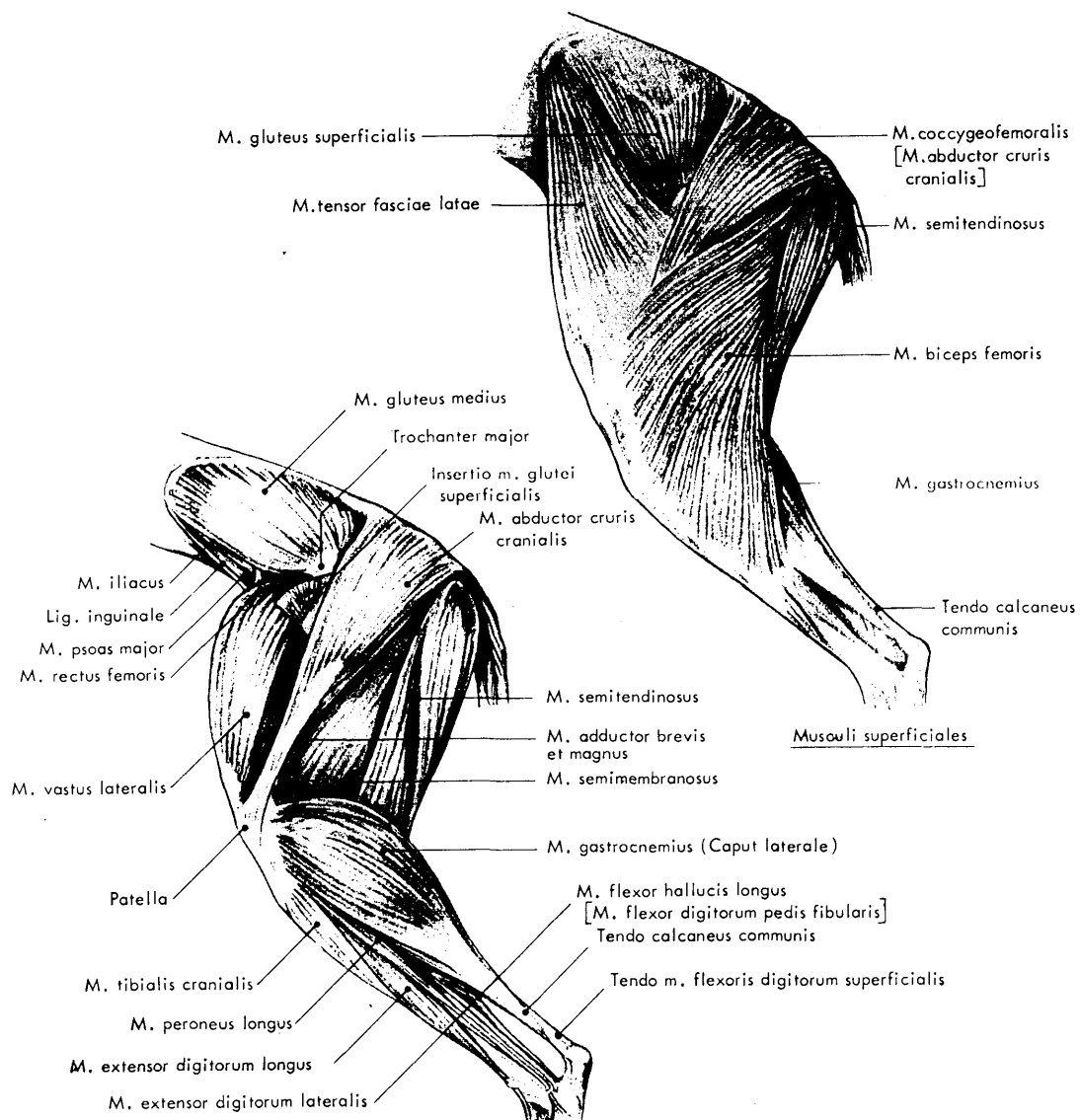


FIG. 11: Representación de la disección superficial de la musculatura de la región dorsal de la extremidad posterior de la rata.

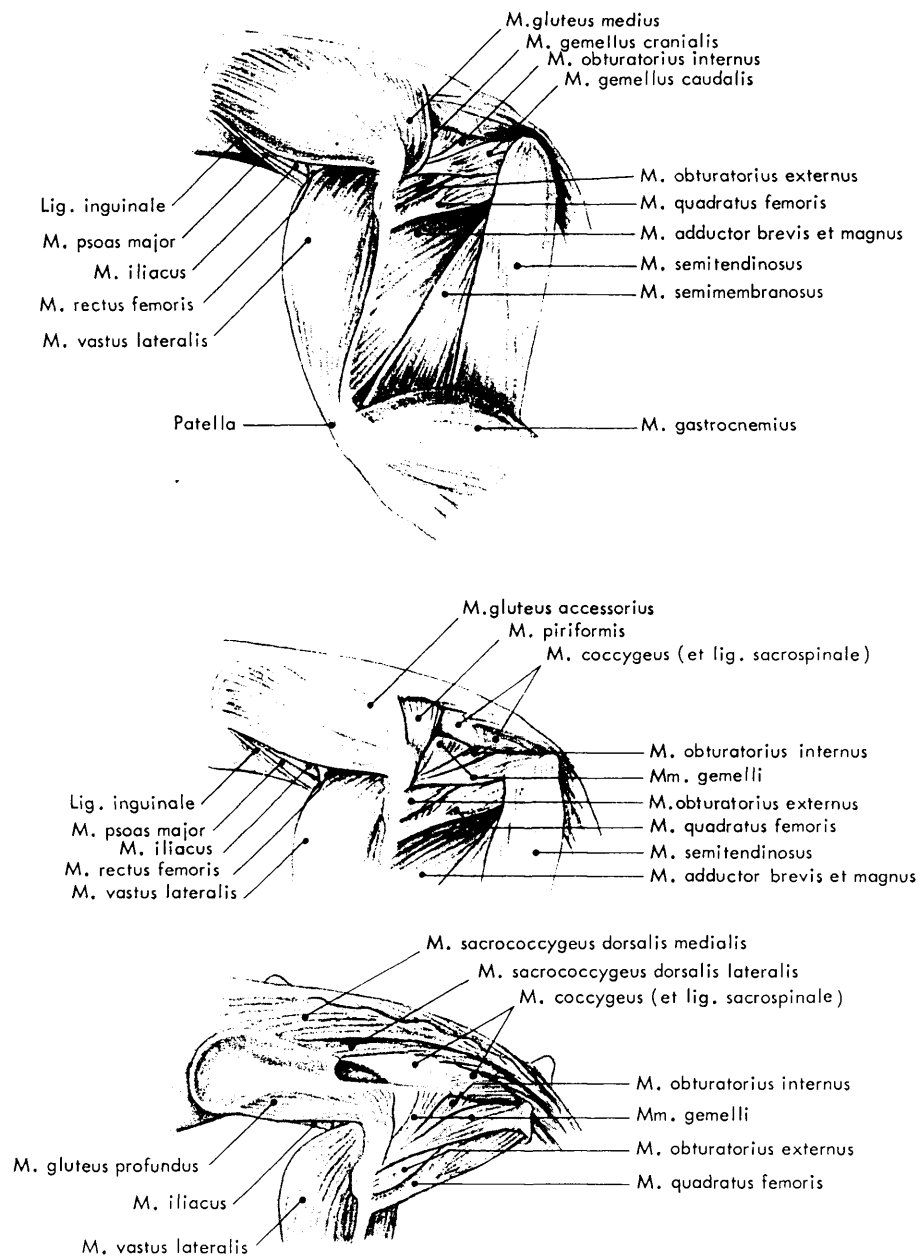
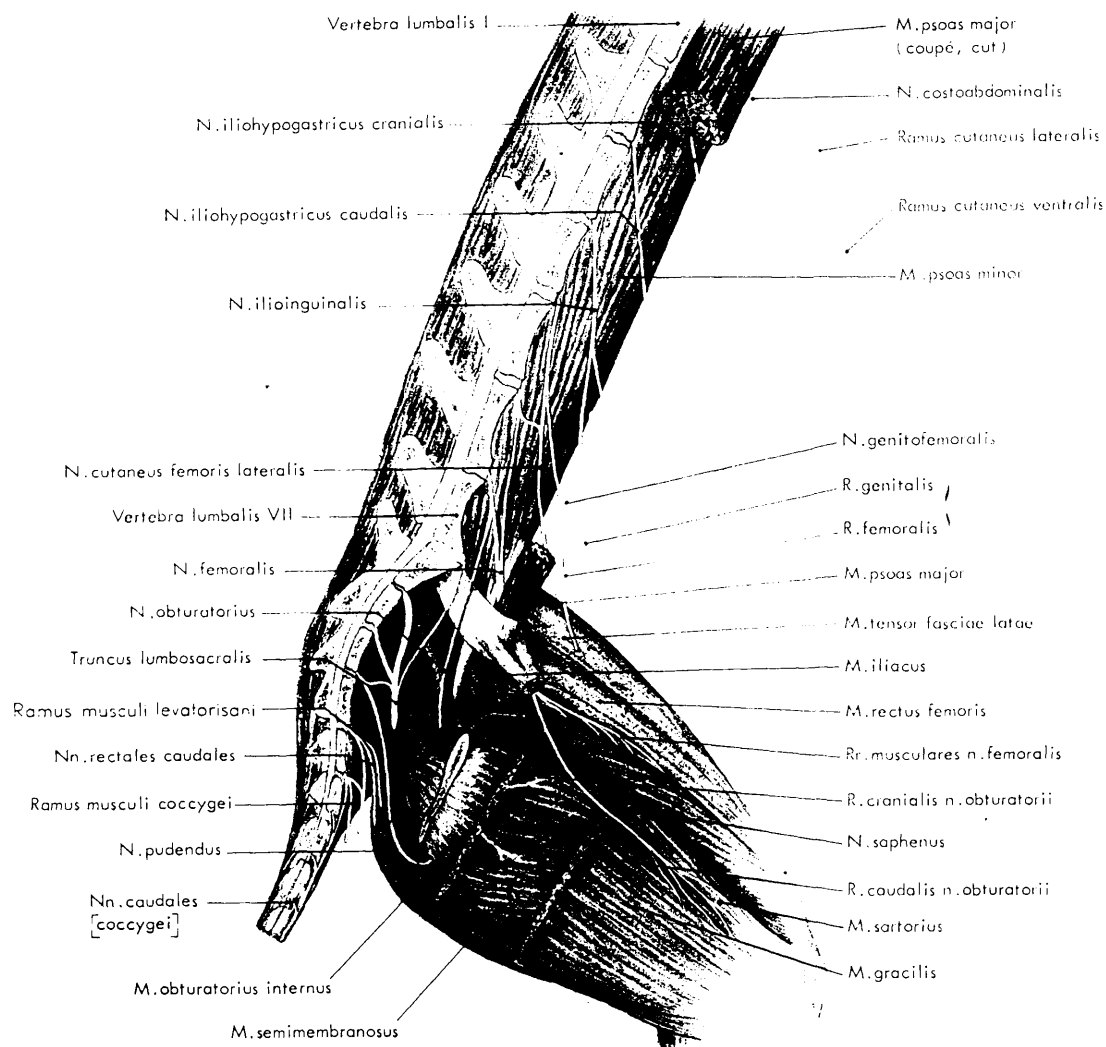


FIG 12: Esquema de la musculatura pélvica de la rata.



PLEXUS LUMBOSACRALIS.

Plexus lombo-sacré.

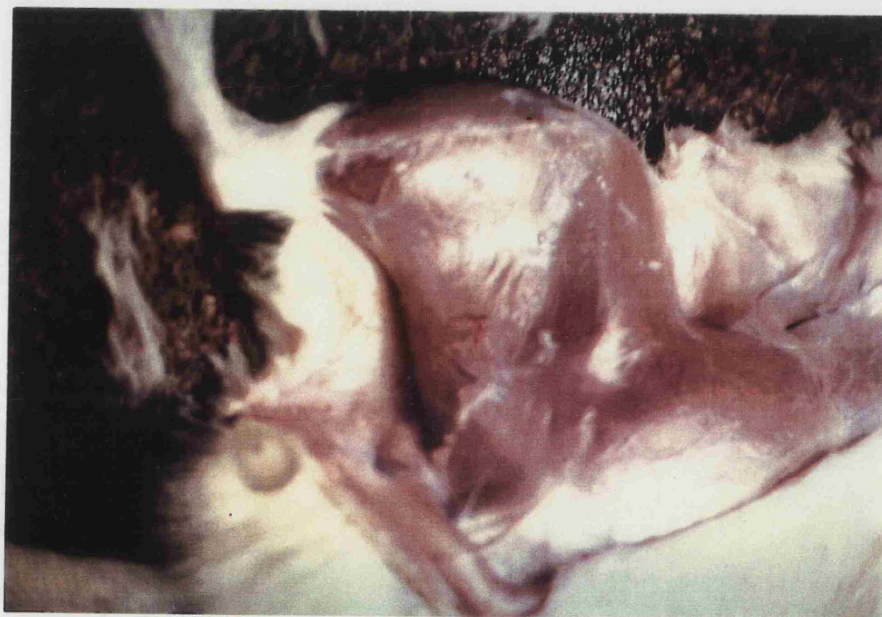
Lumbosacral plexus.

FIG. 13: Esquema del plexo sacro de la rata y su entrada en la pelvis.

Por debajo de la rodilla, el nervio peroneal se divide rápidamente en nervio musculocutáneo y nervio tibial anterior, que van a inervar los músculos anteriores y laterales de la pierna y los músculos dorsales del pie.

El nervio tibial da importantes colaterales para los músculos superficiales y profundos de la celda posterior de la pierna, antes de dividirse en nervio plantar mediano y nervio plantar lateral, que van a inervar a los músculos plantares del pie.

A continuación procedemos a mostrar una serie de fotografías que ilustran la disección de la pata de la rata.



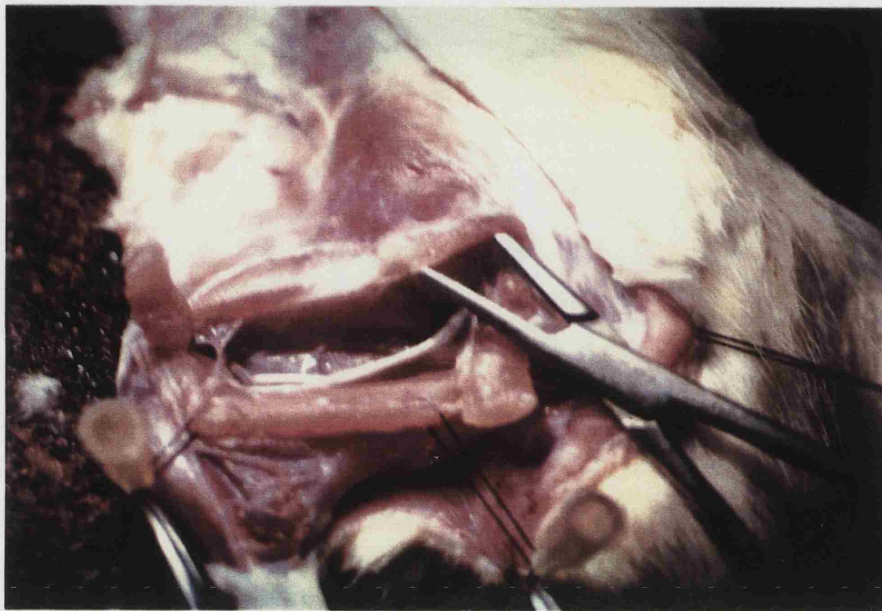
Visión de la musculatura dorsal superficial, tras eliminar la piel de la pata.



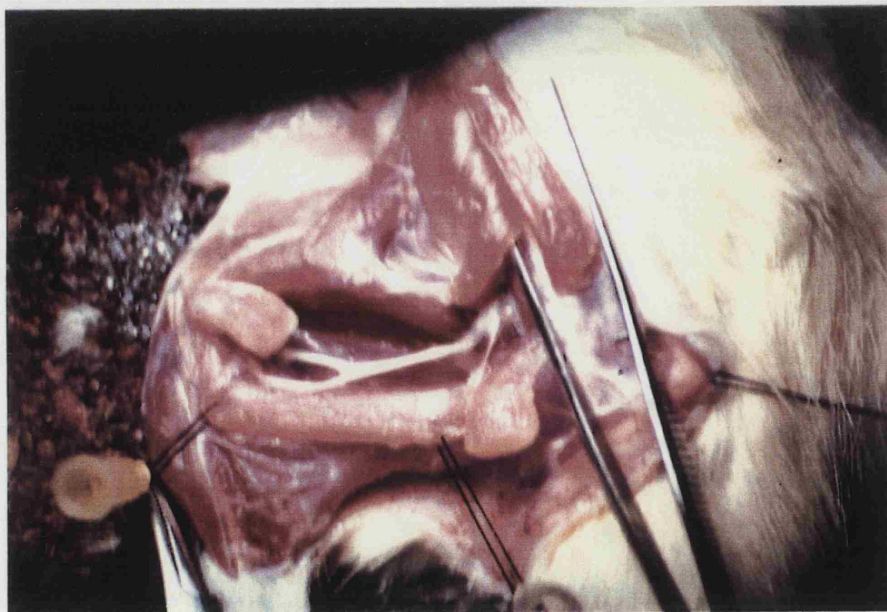
Disección del músculo abductor crural craneal
ó coccigeofemoral.



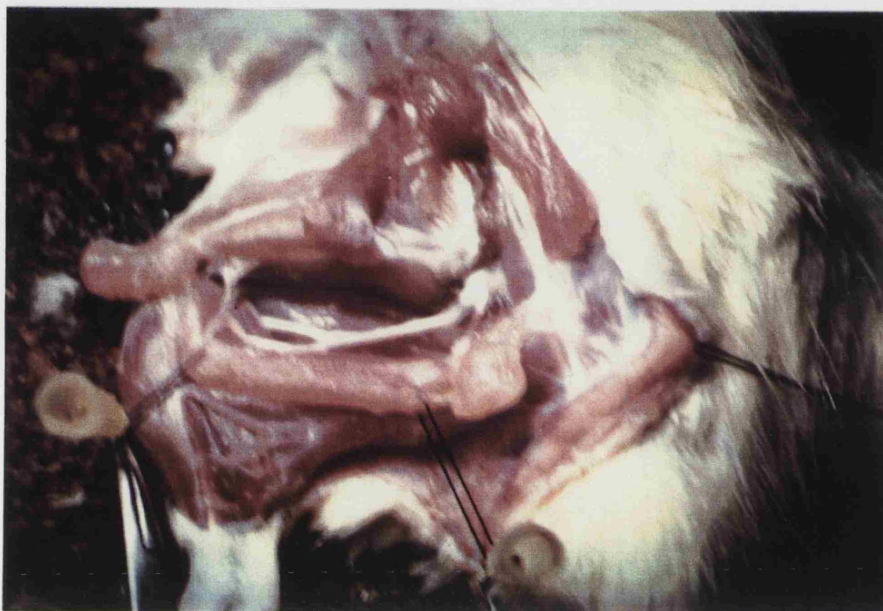
Sección del músculo abductor antes disecado,
que muestra la hendidura donde se encuentra el ciático.



Separación mediante hilos del músculo biceps femoral, disecando con una pinza el músculo gluteo mediano.



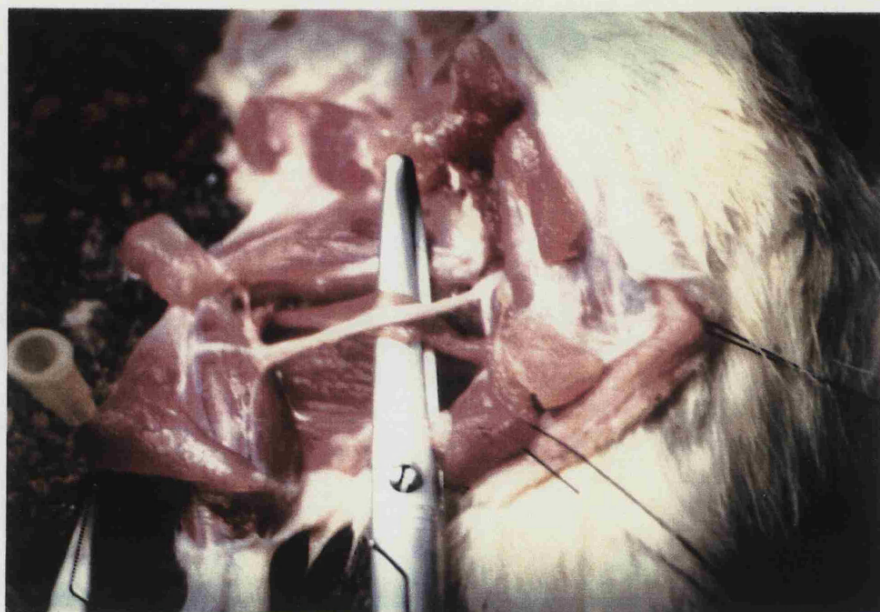
Tras seccionar el gluteo mediano, se disea el gluteo accesorio.



Visión del músculo piriforme, bajo el cual
pasa el ciático.



Sección del bíceps femoral, que permite la
mejor observación del nervio.



Bajo el nervio ciático aparece, disecado el aductor corto.



Tras la sección del nervio ciático, podemos ver disecado el músculo semimembranoso.

OBJETIVOS

A la vista de la enorme controversia que los injertos homólogos han suscitado a lo largo de las últimas décadas, unido a la apremiante necesidad de encontrar una solución a los defectos nerviosos, que no puedan ser resueltos mediante sutura término terminal, y con el propósito de poder disponer de un banco de injertos nerviosos conservados, al que poder acudir en cada caso concreto, nos planteamos en este trabajo de experimentación, estudiar el comportamiento de injertos nerviosos homólogos y heterólogos preservados mediante técnicas de congelación y analizar sus posibilidades de viabilidad así como su comportamiento.

Para ello pretendemos estudiar los siguientes aspectos:

- Valorar la utilidad de la rata como animal de experimentación en el estudio de la regeneración nerviosa periférica tras el injerto.

- Instrucción en la ejecución de las técnicas microquirúrgicas.

- Evaluación del proceso de criopreservación del nervio y su viabilidad con la finalidad del posterior injerto.

- Valoración de la utilidad de la técnica quirúrgica de sutura epineural con apoyo perineural para

el injerto de nervios ciáticos de rata.

- Evaluación del grado de regeneración axonal tras el implante de injertos frescos y congelados.

- Valoración del grado de regeneración nerviosa tras el injerto de nervio homólogo y heterólogo.

MATERIAL Y METODOS

— MATERIALES

ANIMAL DE EXPERIMENTACION

Para realizar el presente estudio hemos utilizado varios grupos de ratas.

Necesitamos al menos dos grupos de ratas, pues tenemos que efectuar injertos singénicos por una parte, e injertos asingénicos por otra.

Para el trasplante de nervios singénicos se emplean ratas tipo WISTAR de un peso de 230 a 300 gr., de sexo masculino.

Para el trasplante asingénico, hemos utilizado como donante ratas WISTAR de similares características que en el injerto singénico; Como animal huesped hemos usado ratas tipo FISCHER, de análogas características de las anteriores.

Estas ratas asingénicas se diferencian entre sí por pequeñas variaciones en sus características de histocompatibilidad, a diferencia de otras ratas como la B.N. (Brown Norway), de gran umbral histocompatible.

MATERIAL DE MICROCIROUGIA

La iniciación en la Microcirugía no sólo

requiere el conocimiento de las diferentes técnicas microquirúrgicas a desarrollar, sino que previamente necesita de un conocimiento a fondo de todo el material necesario para su realización con el fin de obtener el máximo aprovechamiento y rendimiento del mismo.

Algunos autores aconsejan antes de realizar cualquier tipo de microcirugía no tomar excitantes como café, alcohol, tabaco o realizar trabajos que requieran un gran esfuerzo muscular, pues pueden disminuir o dificultar la previsión de movimientos que requiere la técnica microquirúrgica.

MEDIOS DE MAGNIFICACION

La Microcirugía es la Cirugía que requiere para su ejecución de medios magnificadores. De ellos el que nos interesa es el microscopio operatorio, pues no utilizamos ni lupa de disección ni gafa-lupa.

El microscopio operatorio es un instrumento que nos permite ver un objeto a mayor tamaño del real y hacer cirugía en estructuras de igual o menos de 3 mm. de diametro.

Su composición y estructura fue inventada en 1.590, luego se utilizó en múltiples campos hasta 1.921 en que se realizó la primera intervención con él.

Ante todo microscopio operatorio no debemos olvidar que:

1.- Es un aparato de precisión y habrá que evitar cualquier golpe que pueda desajustar sus lentes.

2.- Se procurará que esté en una dependencia cerca de donde se va a utilizar, para trasladarlo lo menos posible, lo que se hará muy lentamente.

3.-Se guardará protegido con una funda de tela o plástico para evitar que se deposite polvo en sus lentes.

4.- Cuando esté fijo se bloquearán las ruedas si se trata de un microcopio operatorio móvil.

5.- Para hacer Microcirugía en la rata no es necesario esterilizarlo, pero se puede hacer cuanto vayamos a estar algún tiempo sin utilizarlo, en estos casos lo envolveremos en una funda pero introduciendo en su interior pastillas de formol. También se puede esterilizar con rayos gamma y si lo necesitamos estéril durante la intervención quirúrgica se pueden poner unas fundas estériles en los mandos de enfoque y de aumentos cuando son manuales.

6.- Es un material caro.

7.- Requiere un entrenamiento previo y antes de utilizarlo debemos conocer bien todas sus características y posibilidades de funcionamiento, estando bien regulado y acoplado a las

características personales o individuales del cirujano que lo va a utilizar antes de iniciar cualquier técnica microquirúrgica.

En el mercado existen múltiples modelos de microscopios operatorios, que pueden ir desde el más simple al más sofisticado según:

- el sistema de soporte.
- incorporación de sistemas de registro audivisual.
- el cuerpo.
- la imagen de magnificación que proporciona y el sistema de obtención de la misma.
- el tipo de lentes que se pueden adaptar.
- la nitidez del campo.
- las distancias de trabajo.
- el sistema de iluminación.
- los oculares de coobservación.

todas ellas entre otras muchas características, buscando siempre, el modelo lo más perfecto posible. En todo microscopio operatorio podemos

estudiar unos componentes básicos:

1.- El microscopio binocular.

Nos permite ver una imagen estereoscópica del objeto y se compone de:

1.1.- Lente del objetivo (A).

Es la que se encuentra cerca del objeto o estructuras sobre las cuales vamos a actuar. Nos determina la distancia focal a la que trabajamos. Existen varios tipos de objetivos para distancias focales que varían entre 100 y 400 mm., ordenadas en intervalos de 25 mm.

La lente del objetivo a elegir dependerá del tipo de Microcirugía que vayamos a realizar, según la profundidad de campo, la cantidad de aumentos y otros factores.

Las lentes estarán siempre limpias, sin polvo, cuando esto ocurre las limpiamos con una gasa húmeda secándolas después con una gasa seca.

1.2.- Tubos binoculares (B).

Son dos tubos móviles con los que toma contacto el cirujano al apoyar sus ojos sobre ellos. La distancia entre ellos depende de la distancia interpupilar del cirujano, hasta ver un solo campo

visual con los dos ojos evitando esfuerzos de la musculatura ocular.

Pueden ser rectos o angulados y su posición será oblicua cuando trabajemos sentados, lo que nos permitira mantener la cabeza y la espalda recta, lo más cómodamente posible pára evitar contracturas y cansancio.

El aumento que proporcionan depende de la distancia focal del tubo del ocular y del tipo de ocular utilizado:

- La distancia focal varia entre 125 y 160 mm.
- Los oculares tienen diferentes aumentos, 10 x, 12,5x, 16 x y 20 x..Además facilita la regularización de dioptrias de -8 a + 8, para corregir la refracción del cirujano. Cada ocular se enfoca individualmente para lograr con cada ojo el máximo poder visual. Esto permite al cirujano miope trabajar sin gafas si tiene poca graduación, pero el cirujano que tiene astigmatismo debe utilizar gafas, pues su defecto no se corrige por los oculares.

1.3.- Sistema de variación de aumentos (C).

Los diferentes aumentos se obtienen mediante un sistema de dos lentes cuyo grado de proximidad puede ser modificado por un sistema manual o mediante un sistema automático que se maneja con un pedal, en una

amplitud de referencia entre 0,4 y 2,5.

Los aumentos reales posibles varían entre 6 x y 40 x, que podemos encontrar en unas tablas de aumentos reales resultantes de combinar la distancia focal del objetivo, el aumento del ocular y el sistema de variación de aumentos.

Es preferible trabajar con el aumento mínimo que permita ver una imagen nítida, ya que a menor aumento tenemos mayor amplitud de campo y mayor profundidad de enfoque, lo que permite hacer las maniobras técnicas de un modo fácil y con menos movimientos.

El aumento total se calcula por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{Aumento total} = \frac{\text{distancia focal de binoculares}}{\text{distancia focal del objetivo}} \times \frac{\text{grado del sistema}}{\text{grado ocular}} \times \text{de aumento} \times \text{aumento}$$

Conociendo el aumento total podemos hallar el diámetro del campo visual de la siguiente forma:

$$\text{diámetro de campo} = 200 / \text{aumento total}.$$

expresándose en mm.

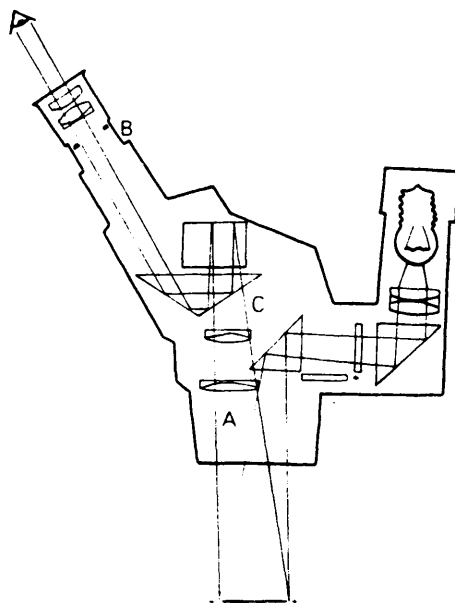


FIG. 16: Esquema de la optica del microscopio operatorio.

2.- El soporte.

Puede ser :

2.1.- Fijo.

Se puede utilizar para apoyar sobre una mesa o, como es nuestro caso para sujetarlo en la pared o en el techo mediante un sistema de anclaje.

2.2.- Móvil.

Es muy utilizado y se apoya sobre el suelo para trasladarse de un sitio a otro por un sistema de

ruedas, por lo que sera lo mas ligero posible.

El sistema de iluminación es un factor muy importante, generalmente es proporcionada por una lampara o un equipo de luz fria que puede ir:

- independiente al microscopio operatorio
- acoplado a él.

Tanto en un caso como en otro deben aportar una buena iluminación limitada al campo donde estemos trabajabndo bien sea superficial o profundo, liso o anguloso.

Se trabajara con la luz mínima que nos resulte más cómoda y nos permita una buena luminosidad del campo, con lo que evitaremos fatigar nuestra vista. Debe ser una iluminación clara y uniforme en todo el campo y que no produzca reflejos.

-En nuestro estudio hemos utilizado el mirosopio operatorio CARL ZEISS JENA OPM 110, cuyas características mas sobresalientes son:

- Conexión a la red: 110, 127, 220 y 240 Volt.
50/60 Hz
- Iluminación: lámpara halógena 6V 20w

- .Margen inclinación: -15º +120º
- .Distancia de trabajo: 200, 300 y 400 mm.
- .Aumentos: 7,5 x
- .Diámetro del campo visual: 22 mm.
- .Soporte: fijo por montura mural a
pared por 4 tornillos.

MATERIAL DE SUTURA

En este apartado vamos a estudiar las características de las siguientes estructuras:

- A) Aguja.
- B) Hilo.
- C) Unión aguja-hilo

Cuyo conjunto debe reunir una serie de propiedades para poder ser utilizadas en Microcirugía como son:

- 1.- Ser de manejo fácil, rápido y preciso.

2.- Tener un escaso poder infectivo y/o antigénico, características que se pueden obviar cuando trabajamos con ratas.

3.- Producir poca reacción tisular.

4.- Ser bien toleradas, en nuestro caso por el animal de experimentación.

Si hacemos un estudio individualizado de cada parte tenemos:

A) Aguja

Es el instrumento donde se implanta el hilo de sutura. Será de acero, a ser posible mate para evitar reflejos sobre ella, fina y con gran flexibilidad, pero también con gran resistencia a doblarse o a la rotura en su manejo, preferentemente con el mismo calibre que el material del hilo, permitirá hacer una penetración en el vaso o nervio que vayamos a suturar suave y precisa, atravesando fácilmente todas sus estructuras, produciendo el menor trauma posible y evitando lesionar las estructuras del lado opuesto. En la aguja deben valorarse tres parámetros:

1.- Cabeza.

2.- Cuerpo.

3.- Punta.

* 1-CABEZA

Sirve de unión con el hilo. Es la zona de enhebrado u ojo de la aguja que puede ser:

- A resorte.

- Corriente.

* 2-CUERPO

Zona de la aguja donde vamos a estudiar diferentes partes como son:

2.1 Forma: puede ser:

- Recta: de fácil manejo, permitiendo una sutura muy rápida, aunque tiene la desventaja de que necesita para su utilización mayor campo quirúrgico, lo que hace que en Microcirugía se use poco.

Tiene una longitud de cuerda o distancia entre la punta y la cabeza de la aguja que es igual a la longitud de la aguja.

- Curva: muy fácil de manejar en campos quirúrgicos pequeños. Tiene un grado variable de curvatura que se expresa en grados de arco, variando en la aguja de Microcirugía entre 105 y 160 grados.

La longitud de cuerda será menor cuanto mayor sea la curvatura, puede variar entre 3,20 y 5,20 mm.

Se utilizan con un porta-agujas y requieren para ser introducidas en el tejido una maniobra de supinación de la mano que dirige el porta-agujas, manteniéndose la aguja en este movimiento sujeta en él.

2.2 Sección: según la cual tenemos:

- Agujas redondas.
- Agujas planas: que tienen la ventaja de que permiten un mejor montaje en el porta-agujas, facilitando su estabilidad y control en él.

2.3 Diametro: Tenderá a ser lo más pequeño posible, para no dejar un agujero de punción en el vaso o nervio muy grande, que pueda ser causa de unos malos resultados posteriores.

Varia entre 70 y 200 micras, con un término medio de 100 micras.

2.4 Longitud: Dependerá de la estructura a saturar, en Microcirugía se utilizan de 3,0 a 8,0 mm.

2.5 Radio: Cuyos valores oscilan entre 1,70 y 2,80 mm.

* 3.- Punta

Será afilada y puntiaguda para facilitar la penetración, afectando poco a los tejidos. En Microcirugía se utilizan agujar de punta cilíndrica porque producen poco traumatismo y dejan poco agujero de punción en la estructura suturada.

Cuando trabajemos con un medio de magnificación, procuraremos tener la aguja siempre dentro del campo visual, controlando su localización y evitando que se pierda. La podemos pinchar en una pequeña esponja que coloquemos nosotros como punto de referencia.

B) HILO

Se pueden utilizar dos tipos fundamentalmente:

1.- Absorbible: POLIGIACTIN 910.

2.- No absorbible: NYLON MONOFILAMENTO.

La sutura absorbible tiene un período de resistencia útil, que es el tiempo durante el cual mantiene una resistencia suficiente para tener los dos bordes suturados unidos, garantizando la cicatrización de la zona. Se reabsorbe de forma gradual.

La sutura no absorbible se mantiene siempre en la zona de sutura con todas sus propiedades.

Ambos tipos deben reunir una serie de características como son:

- Ser resistentes, con alta fuerza tensil.
- Producir poca reacción inflamatoria en la zona de sutura.
- Ser flexibles para facilitar su manejo y adaptabilidad del material de sutura a la estructura saturada. A veces hay que humedecerlos antes de empezar a suturar para aumentar su flexibilidad.
- Anudarán suavemente y producirán nudos seguros y apretados con el menor número posible de lazadas.
- Tendrán un diámetro uniforme y con un perfecto calibrado.
- Serán de alta calidad y estériles, característica esta última que se puede eliminar si trabajamos con ratas, donde podemos utilizar suturas no estériles sin peligro de infección.
- Serán preferentemente de color para ser fácilmente visibles a través de los medios de magnificación.

Según el diámetro del hilo de sutura y la

resistencia del mismo se gradúan las microsuturas con una numeración que va desde 7/0 hasta 12/0, siendo las suturas de mas de 12/0 demasiados frágiles y quebradizas para realizar las técnicas sin riesgo de rotura.

La longitud de la sutura varia entre los 5 y 13 cm.. Cuando la longitud es grande se prefiere con doble aguja, una a cada extremo del hilo evitando que el hilo pase muchas veces a traves de la estructura que se esta suturando, dando lugar a un mal resultado.

C) UNION AGUJA-HILO

Es un factor muy importante y puede ser:

- Continuidad directa del hilo con la aguja: da lugar a una sutura atraumática, es decir, el hilo se acopla o adapta al agujero de punción que ha dejado la aguja y lo rellena con su calibre.

- Enhebrada la sutura en la aguja: hace una sutura traumática, pues el agujero que deja es grande y no se rellena por el hilo de sutura. No se usa en Microcirugía.

Se pueden unir agujar de diametro y curvatura diferentes dentro de un mismo grosor de hilo.

La unión aguja-hilo debe ser perfecta y segura para realizar microsuturas y aunque cuando se haga el nudo se manipulan los dos extremos del hilo, no se debe

traccionar nunca de la aguja con lo que se evita romper esta unión.

A nivel particular, para realizar el experimento hemos utilizado varios tipos de sutura:

- Sutura de nylon 12" de 10-0, con aguja curva CU-1 de cara cortante, de 30 cm. de longitud y doble aguja. Esta sutura está fabricada por SURGICAL PRODUCTS DIVISION ALCON LABORATORIES, INC.

- Sutura de polipropileno, PROLENE* blue, de 6-0 y de 7-0, con hilo monofilamento y aguja curva de cara cortante de 15mm., fabricada por JOHNSON & JOHNSON, con el nombre de ETHICON.

- Sutura de seda trenzada de la casa MARIN LORCA, de:

3-0 con aguja TB/15.

4-0 con aguja C/15.

5-0 con aguja TB/10

INSTRUMENTAL MACROQUIRURGICO

Se utilizará durante la disección de piel y músculo hasta llegar al nervio ciático de la rata.

Debe ser de tamaño adecuado y se guarda en una caja metálica con tapa individual o bisagra desmontable, donde se deposita en el fondo sobre una esponja para que no se deteriore, aunque no se necesita que sea estéril se puede poner debajo de ella una o dos pastillas de formol.

Para su limpieza no se debe mezclar con el instrumental de Microcirugía.

El conjunto se compone de :

- Mango de bisturí metálico de diversos tamaños.
- Hojas de bisturí de diferentes numeraciones (16, 20, 24, etc..).
- Porta-agujas de Mayo con cremallera.
- Tijera quirúrgica de Mayo recta o curva.
- Tijera de disección curva.
- Pinza de disección de Adson con o sin dientes.
- Pinzas hemostáticas finas Baby-mosquito (Hartmann) curvas.
- Separadores manuales de Farabeuf.

MATERIAL MICROQUIRURGICO

El instrumental microquirúrgico es generalmente de acero inoxidable con gran resistencia, tendiéndose a utilizar el construido con material antimagnético para facilitar las maniobras de sutura. Para evitar la magnetización del instrumental se pondrá lejos de material eléctrico. Se tiende a que sea mate para evitar reflejos molestos a la hora de trabajar.

Debe presentar una adecuada miniaturización y precisión suficiente para manejar las pequeñas estructuras y facilitar los movimientos de la mano en su manejo.

El instrumental de Microcirugía utilizado deriva en gran parte del usado en Oftalmología.

El equipo consta de:

- Porta-agujas de Barraquer o Castroviejo recto o curvo sin cierre. Tiene un mecanismo de resorte, sin cierre de seguridad o cremallera para evitar maniobras bruscas al soltar la aguja desgarrando el tejido. El mango puede ser plano o redondo que facilita los movimientos de balanceo que se hace en el momento de la sutura. Junto con las pinzas, se cogerá entre los dedos pulgar e índice como si se tratara de un

bolígrafo, lo que nos permite apoyarnos en la mesa de operaciones con los dedos meñique y anular.

- Tijeras de Westcott: Puede ser de diferentes modelos según las utilicemos para :

:Disección fina: curvas y romas.

:Corte: rectas y puntiagudas.

Todas ellas tienen un mecanismo de resorte.

- Tijeras de iris curva (Vannas).

- Pinzas rectas y curvas: Derivan en su mayoría de las pinzas de relojero . Se denominan pinzas Dumont, pudiendo ser rectas o curvas.

Pueden tener diferentes usos tanto como porta-agujas como para disección y sutura o para dilatación de boquillas vasculares.

-Clamps: Es material básico en la Microcirugía vascular, pero nosotros en este estudio los hemos utilizado para la extracción del nervio, en que hemos disecado la arteria poplitea para extraer mayor longitud de nervio.

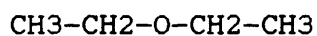
MATERIAL COMPLEMENTARIO:

1.- Anestésico.

Para la técnica preferimos la utilización de la vía inhalatoria, que tiene la ventaja de que al ser suprimida la inhalación de la misma se elimina rápidamente el nivel de anestésico en sangre, teniendo el animal un buen posoperatorio inmediato.

El anestésico utilizado es el eter dietílico, que es un líquido incoloro, de olor irritante, que disuelve las grasas siendo solubre en agua, muy volátil, inflamable y explosivo, que se descompone por la luz, el aire y el calor, por lo que se recomienda la conservación del mismo en un recipiente opaco, bien cerrado y en nevera.

Su fórmula es:



Atraviesa la barrera placentaria y su utilización es contraindicada en caso de diatermocauterización.

Es el anestésico inhalatorio mas empleado en cirugía experimental, por ser muy eficaz, barato y permitir un despertar rápido.

2.- ATROPINA.

Agente con acción parasimpaticolítica que antagoniza las acciones muscarínicas de la acedtilcolina.

Es un alcaloide natural de la ATROPA BELLADONA, liposoluble, que atraviesa las barreras hematoencefálicas y placentarias.

La rata y roedores en general poseen en plasma e hígado una enzima (atropinestearasa) que aumenta su tolerancia y justifica el uso en ellos de altas dosis.

Las características por las que se utiliza en anestesia son porque disminuye o inhibe la secrección de saliva y moco nasofaríngeo, abundante en caso de utilizar éter y porque relaja la musculatura lisa del árbol bronquial.

Otros efectos indeseables son: midriasis, taquicardia, hipertensión y colapso.

En la rata se administra sucutánea o intramuscularmente 0,2 mg./Kg., bien diez minutos antes de la anestesia o bien durante la misma a nivel de una de las patas traseras.

3.- ESPONGOSTAN

Es un producto comercial presentado en forma de una lámina o tela que contiene fibrina. Su utilidad es como hemostático, colocándose un pequeño fragmento de la esponja a nivel del punto sangrante.

4.- ANTISEPTICOS

Utilizados de forma profiláctica para evitar las posibles infecciones quirúrgicas. En esta técnica hemos utilizado dos tipos de antisépticos:

--- Hibitane.

--- Betadine.

5.- CONGELADOR

El congelador utilizado en este experimento es el denominado IBERNA EL.4

6.- RASURADORA

El aparato utilizado para rasurar a la rata es el denominado "Detachable Blade Small Animal Clipper OSTER A.5 44E". Es utilizable a un voltaje de 220-240 V. de corriente alterna con frecuencia de 50 Hz. y una potencia de 35 Watt.

7.- MATERIAL ICONOGRAFICO

Para realizar las fotografías, hemos utilizado una máquina YASHICA FX-D, con obturador de velocidad controlada automáticamente de forma electrónica.

8.- METODOS DE HEMOSTASIA

En general las intervenciones han sido muy poco sangrantes, pero cuando ha sido preciso se ha usado un termocauterizador EFF 855-P de alimentación por pilas de corriente continua, utilizado habitualmente en oftalmología

— METODOS

PROTOCOLO OPERATORIO

Para realizar este estudio se han utilizado cuatro grupos de trabajo, cada grupo consta de diez ratas. Se ha nombrado cada grupo mediante una letra (la letra "G") y un número correspondiente a el número ordinal del grupo. A su vez cada rata se nombra refiriéndose al número de su grupo y al número ordinal de la propia rata: Así, por ejemplo la rata G.2.4. es la cuarta rata del 2º grupo.

En el protocolo de trabajo se han utilizado los dos primeros grupos (G.1. y G.2.) para realizar los trasplantes entre ratas singénicas, utilizándose tanto como donante como receptoras ratas tipo WISTAR de pesos comprendidos entre los 240 y los 310 grs. En los grupos G.3. y G.4. se han utilizado ratas no singénicas, empleando como donantes a ratas tipo WISTAR y como receptoras a ratas tipo FISCHER, ambas con iguales características de tamaño y de crianza, como se ha hablado anteriormente.

A su vez se ha realizado el injerto en fresco en los grupos G.1. y G.3. ; en cambio se ha realizado el pretratamiento del injerto mediante congelación en los dos grupos restantes G.2. y G.4.

ABREVIATURAS:

TRS: Trasplantada.

CGL: Congelada.

C.I: Nervio Ciático Izquierdo.

C.D: " " Derecho.

EXT: Extraída.

TPO: Tiempo de duración de la intervención (en minutos).

NT : Nota.

GRUPO G.1: Wistar-Wistar, fresco.

G.1.1: TRS: Miércoles 7 Octubre 1987.

C.I.-C.I.

TPO: 205.

G.1.2: TRS: Miércoles 7 Octubre 1987.

C.I.-C.I.

TPO: 170.

G.1.3: TRS: Jueves 8 Octubre 1987.

C.I.-C.I.

TPO: 165.

G.1.4: TRS: Jueves 8 Octubre 1987. (Tarde).

C.I.-C.I.

TPO: 190.

G.1.5: TRS: Viernes 9 Octubre 1987. (Mañana).

C.I.-C.I.

TPO: 200.

-EXT: Miércoles 5 Enero 1988.

GRUPO G.2: Wistar-Wistar, congelado 7 dias.

G.2.1: CGL: Martes 6 Octubre 1987.

TRS: " 13 " " .

C.I.-C.I.

TPO: 220.

G.2.2: CGL: Jueves 8 Octubre 1987.

TRS: Miercoles 14 Octubre 1987.

C.I.-C.I.

TPO: 200.

G.2.3: CGL: Jueves 8 Octubre 1987.

TRS: " 15 " " .

C.I.-C.I.

TPO: 195.

G.2.4: CGL: Viernes 9 Octubre 1987.

TRS: " 16 " " .

C.I.-C.I.

TPO: 210.

G.2.5: CGL: Viernes 9 Octubre 1987.

TRS: " 16 " " .

C.I.-C.I.

TPO: 185.

-EXT: Miércoles 12 Enero 1988.

GRUPO G.3: Wistar_Fischer, fresco.

G.3.1: TRS: Lunes 2 Noviembre 1987.

C.I.-C.I.

TPO: 155.

G.3.2: TRS: Miércoles 4 Noviembre 1987.

C.I.-C.I.

TPO: 170.

G.3.3: TRS: Jueves 5 Noviembre 1987.

C.I.-C.I.

TPO: 240.

G.3.4: TRS: Jueves 5 Noviembre 1987.

C.I.-C.I.

TPO: 200.

G.3.5: TRS: Viernes 6 Noviembre 1987.

C.I.-C.I.

TPO: 185.

-EXT: Martes 9 Febrero 1988.

GRUPO G.4: Wistar-Fischer, congelado 7 dias.

G.4.1: CGL: Lunes 12 Octubre 1987.

TRS: " 19 " " .

C.I.-C.I.

TPO: 205.

G.4.2: CGL: Martes 13 Octubre 1987.

TRS: " 20 " " .

C.I.-C.I.

TPO: 190.

G.4.3: CGL: Miércoles 14 Octubre 1987.

TRS: " 21 " " .

C.I.-C.I.

TPO: 210.

G.4.4: CGL: Jueves 15 Octubre 1987.

TRS: " 22 " " .

C.I.-C.I.

TPO: 185.

G.4.5: CGL: Viernes 16 Octubre 1987.

TRS: " 23 " " .

C.I.-C.I.

TPO: 215.

-EXT: Martes 26 Enero 1988

PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Como hemos mencionado en el capítulo anterior, se hacen cuatro grupos de ratas en las que se trasplanta el nervio ciático izquierdo y se mantiene durante tres meses en el animal.

Los grupos en que se divide se han visto en el capítulo anterior, dividiéndose en dos grupos de injertos homólogos y otros dos heterólogos, subdividiéndose cada tipo en un grupo de trasplante fresco y otro criopreservado.

Las características del animal han sido estudiadas en el apartado de materiales, restando solo por mencionar el hecho de que las cepas de ratas utilizadas (Wistar y Fischer) presentan entre sí pocas diferencias de histocompatibilidad .

TECNICA QUIRURGICA

INDUCCION DE LA ANESTESIA

Para inducir la anestesia con el éter se puede utilizar una cámara o campana de vidrio con una rama terminal en forma de embudo. Se coloca a la rata dentro de la campana y se introduce una torunda de algodón empapado con éter. Otro algodón también empapado con éter se coloca en la rama vertical del embudo, con lo cual, por un lado el vapor desciende por las paredes de la campana y por otro se mantiene en el espacio que delimita la misma, mientras es inhalado por el animal. Este permanecerá en la campana hasta que se duerma, momento en el cual será extraído de la misma. El tiempo que estará en la campana es muy variable puesto que la dosis del vapor anestésico administrado al animal es muy aleatoria, dependiendo de lo impregnado que esté el algodón o de la resistencia que oponga el animal a dormirse.

La ventaja que tiene el utilizar una campana de vidrio es que en todo momento vemos la actitud que adopta el animal y así observaremos que antes de dormirse presentará una ligera agitación, taquicardia y taquipnea.

Si este tiempo se alarga mucho se puede impregnar otro algodón con éter e introducir esta nueva torunda, pero teniendo siempre en cuenta que la dosis anestésica y la dosis mortal del éter son muy próximas y

el animal puede pasar de un estado de agitación a un estado comatoso con parada respiratoria, por parálisis del centro respiratorio, que antecede a la parálisis del centro vasomotor y la muerte. Ello hace que tengamos que tantear la dosis según veamos la reacción del animal dentro de la campana.

Una vez que sacamos al animal de la campana, normalmente tenemos que mantener la anestesia, lo que se hace colocando en un tubo de aproximadamente 50 c.c., a modo de mascarilla, las torundas de algodón empapadas y acercárselo al hocico de la rata tanteando la profundidad de la anestesia, evitando que el animal se despierte y realice movimientos bruscos o bien que sufra una parada respiratoria por sobredosis.

Para el tanteo de la profundidad de la anestesia se recomienda que se encuentre la rata en un estado en que esté inhibido el reflejo corneal, éste es un reflejo defensivo con aferencia a través del nervio trigémino, por el que cuando un objeto contacta con la córnea se produce el cierre del párpado para evitar la lesión ocular, con lo que el animal se encuentra en un estado óptimo para hacer la cirugía.

El reflejo corneal se controla utilizando una gasa pequeña con la que se toca suavemente la cornea del ojo de la rata: si la rata parpadea significa que todavía no está profundamente anestesiada, con lo que debemos continuar administrándole el éter; si por el contrario, no parpadea, significa que la anestesia es lo

suficientemente profunda y debemos tener precaución para no causar una sobredosis.

Otra característica de la anestesia con éter es que produce mucha salivación y secrección nasofaríngea, por lo que puede ser conveniente administrar atropina a una dosis de 0,2mg/Kg. de forma subcutanea en la pata que no vayamos a operar.

COLOCACION DEL ANIMAL

Cuando la rata se encuentra anestesiada se procede a su colocación sobre la mesa quirurgica, donde se ha puesto una plancha de corcho a la que se fija la rata, en una posición de decúbito prono, con las patas dorsales en semiflexión y abducción, postura en que el nervio ciático se encuentra sin tensión.

RASURADO

Una vez colocada la rata se procede a su rasurado, siendo aconsejable que este se produzca en seco, en la región dorsal de la pata, desde la línea media, hasta mas abajo de la articulación de la rodilla, cranealmente el límite se establece a nivel de la cresta iliaca.

A continuación procedemos a la limpieza de la zona con un vaporizador de HIBITANE.

EXTRACCION DEL NERVIO

Se incide la piel con el bisturí en la parte dorsal del miembro inferior, en una línea que siga una dirección desde medio centímetro anterior de la raíz de la cola hasta la articulación femorotibial. Se disecciona la piel y tejido celular subcutáneo hasta llegar a la aponeurosis a nivel de la musculatura, sobre la que se aborda a nivel de la unión entre los músculos abductor cruris craneal y biceps femoral, como se observa en la ilustración que acompaña a la descripción de la anatomía, (FIG. 11), sin seccionar ninguno de ellos, limitándonos a separarlos y poner separadores confeccionados con clips sujetapapeles.

Conviene evitar la confusión con la unión entre el biceps y semitendinoso, punto por el que también es posible llegar al ciático, pero con un abordaje mas dificultoso y sangrante al existir mayor cantidad de vasos (ver fotografías sobre la anatomía).

Se realiza la disección hasta llegar a nivel del nervio ciático. La técnica, en este momento, es cuidadosa y debe tener en cuenta todo el tiempo la posibilidad de traumatizar el nervio, que se debe tocar el menor número posible de veces.

Llegados a la fase de exposición del nervio donante se debe abrir un campo quirúrgico lo más amplio posible que exponga el nervio desde su salida por debajo del músculo piramidal hasta un nivel lo más distal posible y que debe visualizar siempre la bifurcación en

tibial y peroneal. En esta fase aún no hemos actuado directamente sobre el nervio. Para exponer el campo se deben separar los músculos disecados anteriormente, traccionando de los separadores con suavidad del biceps, como se vé en la fotografía anexa.

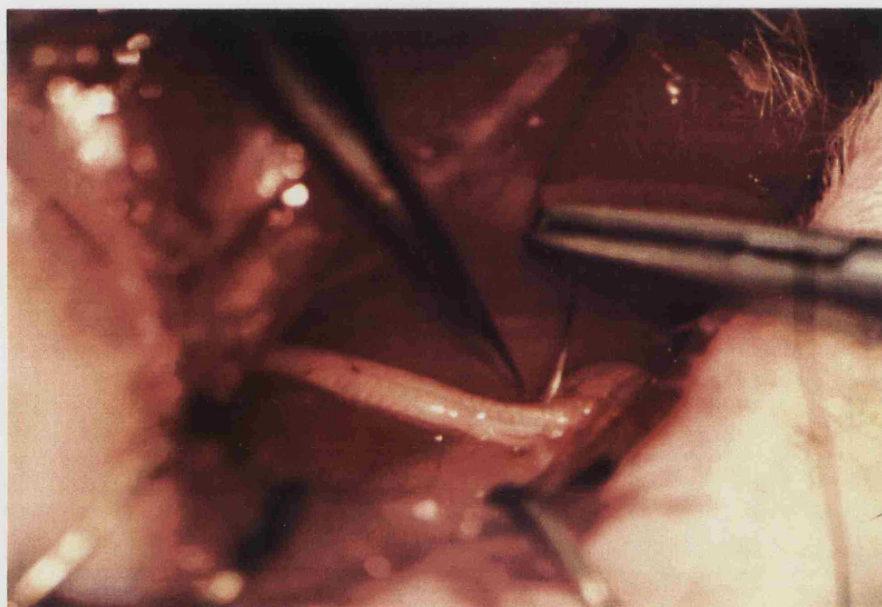


Posteriormente, una vez descubierto el campo quirúrgico se procede a una cuidadosa disección roma del nervio ciático separándolo de las estructuras a que se une por tejido conjuntivo laxo.

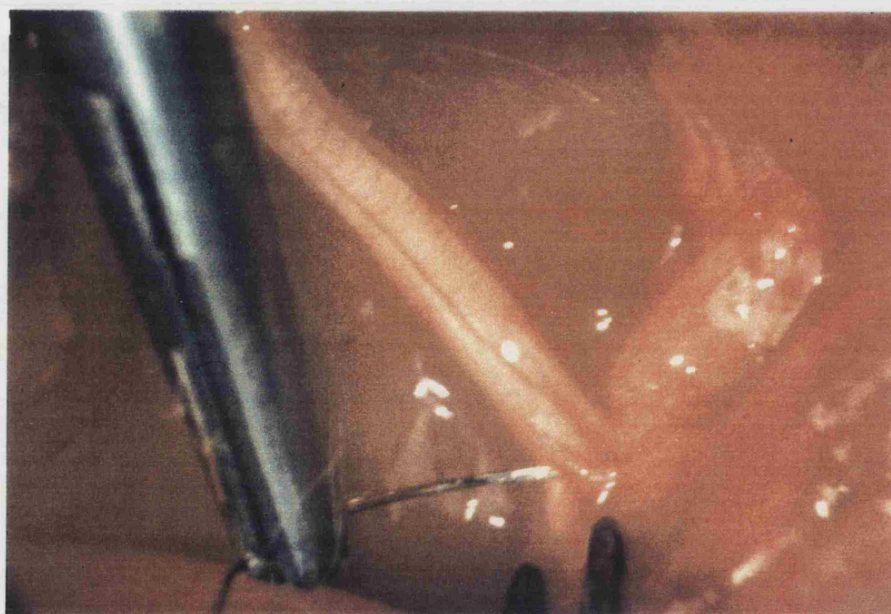
Cuando hemos disecado el nervio la conducta posterior varía según sea el tratamiento a que sometamos al mismo:

- Si el nervio va a ser congelado, lo que se hace es darle un punto con una sutura coloreada de 6/0 ó 7/0 distalmente a la bifurcación y al nivel más caudal

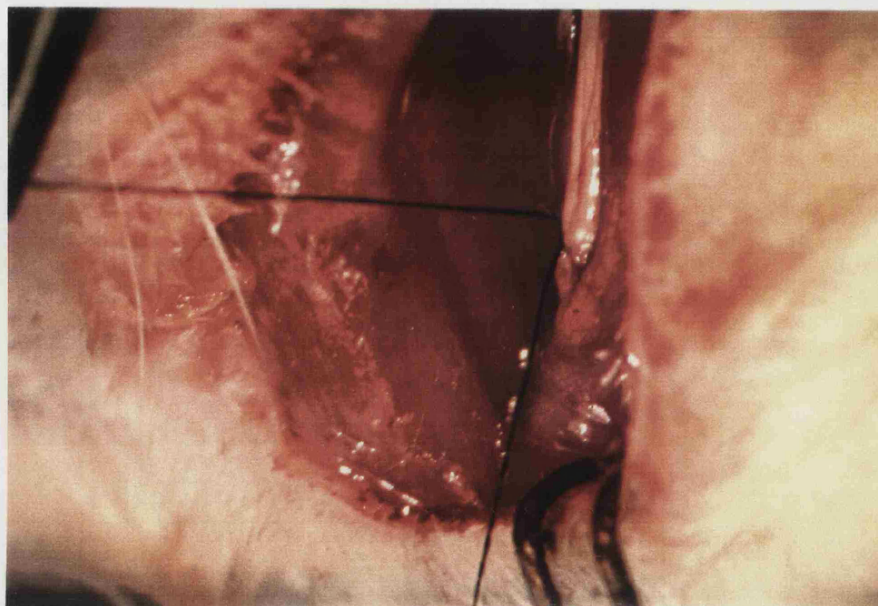
posible. Este punto nos sirve de referencia para saber que ésta es la parte distal del futuro injerto nervioso.



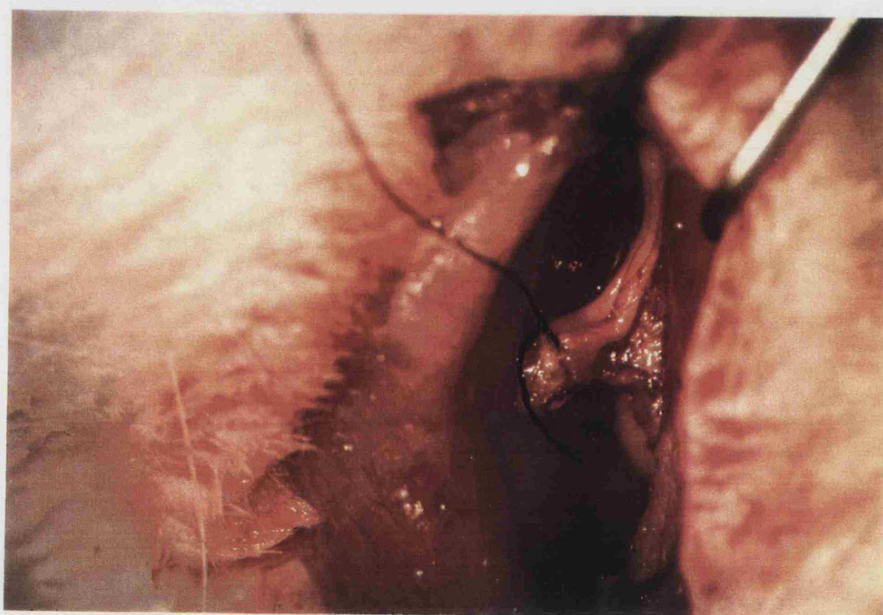
Momento de la colocación del punto distal.



Detalle del mismo momento.

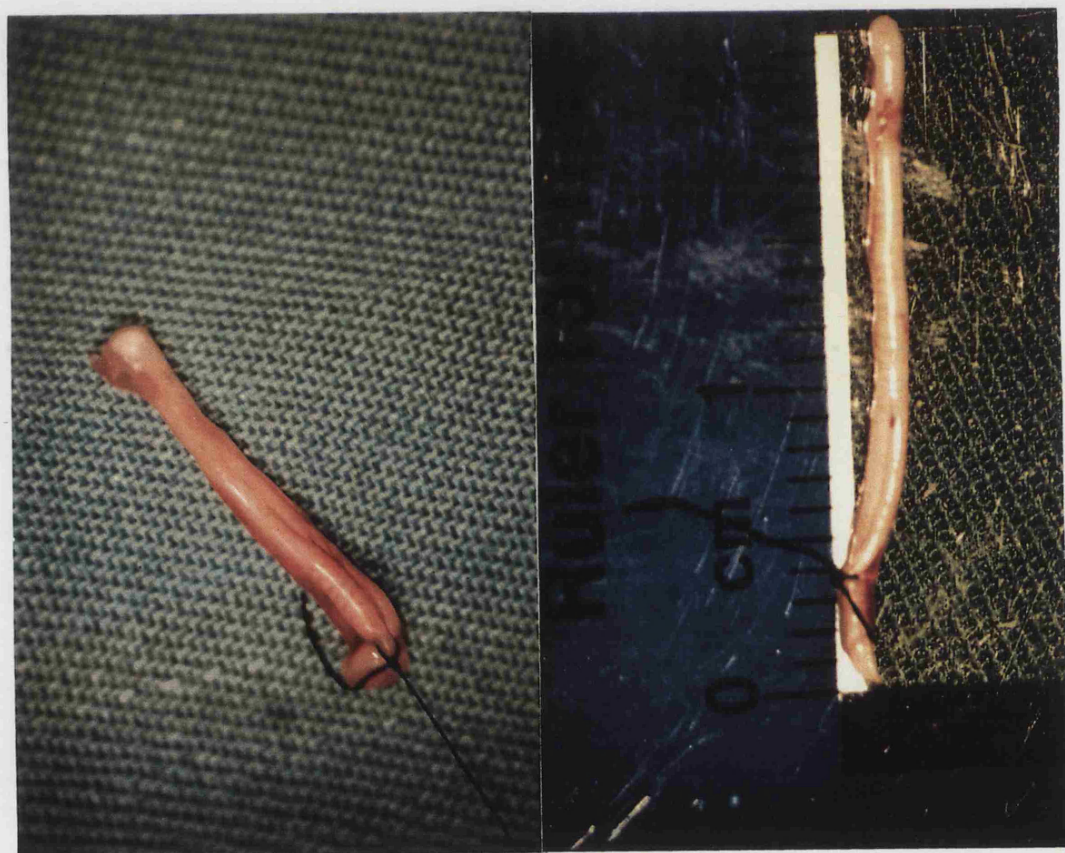


Momento de colocación del hilo de sutura en el nervio.



Tras ello, se realiza la sección distalmente al punto de referencia, que sabemos es caudal. Posteriormente, se actúa sin manipular el nervio en ningún momento, sin traccionarlo bruscamente y sin doblarlo, pues ello puede afectar sustancialmente al resultado final de la prueba.

Para completar la extracción se toma el nervio por el punto de referencia y completando la disección de las partes adheridas aún del nervio con cuidado y no lesionarlo (razón por la que no utilizamos disector, sino que debemos utilizar microtijeras para cortar las adherencias conjuntivas). Una vez liberado el nervio traccionamos suavemente hacia nosotros y hacemos otro corte limpio con las tijeras para obtener el injerto, lo más próximo posible a la salida de la pelvis.



Ahora observamos dos detalles del injerto una vez extraído.

- Si el nervio va a ser injertado en fresco, seguimos la misma pauta que para extraerlo y congelarlo, lo que no hacemos es el tratamiento posterior.

CONGELACION DEL NERVIO

Una vez extraído el nervio para ser congelado con la mayor celeridad posible, debemos colocarlo sobre una plataforma de sticopor muy fino, que se almacenará en una gradilla habilitada al efecto, de forma horizontal. Al colocar el injerto en el soporte no debemos doblarlo, pues ello puede producir alteraciones histológicas. El punto utilizado para marcar el extremo distal del injerto se debe fijar al soporte para evitar movimientos del nervio.

La gradilla con los nervios se mantendrá en el interior de otro recipiente de sticopor, que a su vez se tiene durante siete días enteros en el interior del congelador a una temperatura de -50° .

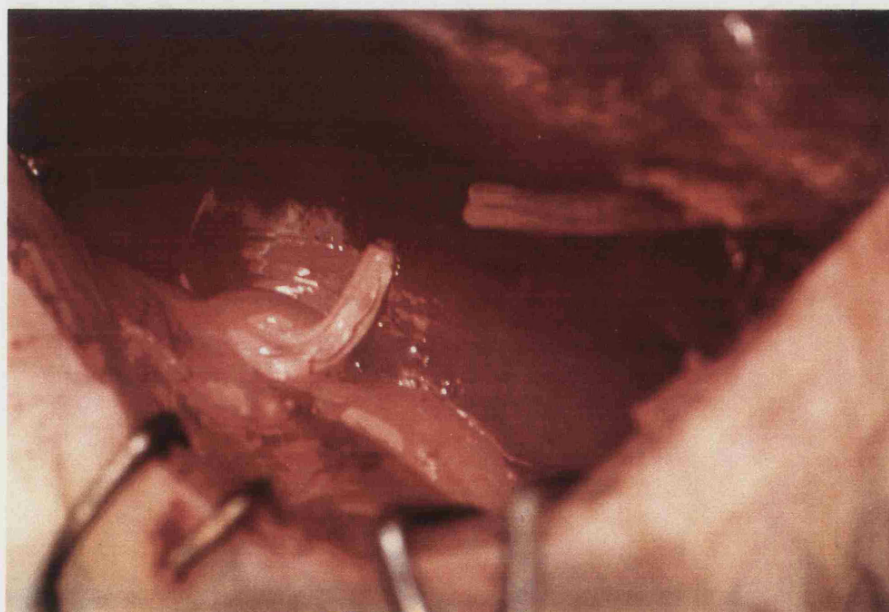
DESCONGELACION DEL NERVIO

Cuando el injerto lleva siete días congelado se saca de su recipiente en el momento en que va a ser injertado, mediando solo un breve espacio de unos minutos entre hasta que es injertado en el huesped. El proceso de descongelación se produce introduciendo el injerto en un recipiente que contiene suero fisiológico a una temperatura de 4 a 8° .

COLOCACION DEL INJERTO

Una vez hemos disecado el nervio ciático de la rata huesped, de forma análoga a la expuesta para la extracción del nervio se procede a la colocación del injerto.

En el momento en que va a ser colocado se procede a la preparación del injerto, para ello, del nervio que hemos extraído previamente eliminamos la porción proximal de 5 mm., que es una zona traumatizada. Esto se hace con una cuchilla de afeitar muy cortante y procurando que el corte sea totalmente perpendicular al nervio y de forma lo más limpia posible. De forma análoga se secciona el nervio.



Aquí vemos el nervio seccionado.

Ahora se puede observar que en los cabos

seccionados se produce la salida de una gelatina conjuntiva por la presión ejercida por el epineuro, por ello mediante unas pinzas de extremo agudo y unas microtijeras de corte eliminamos este tejido gelatinoso,

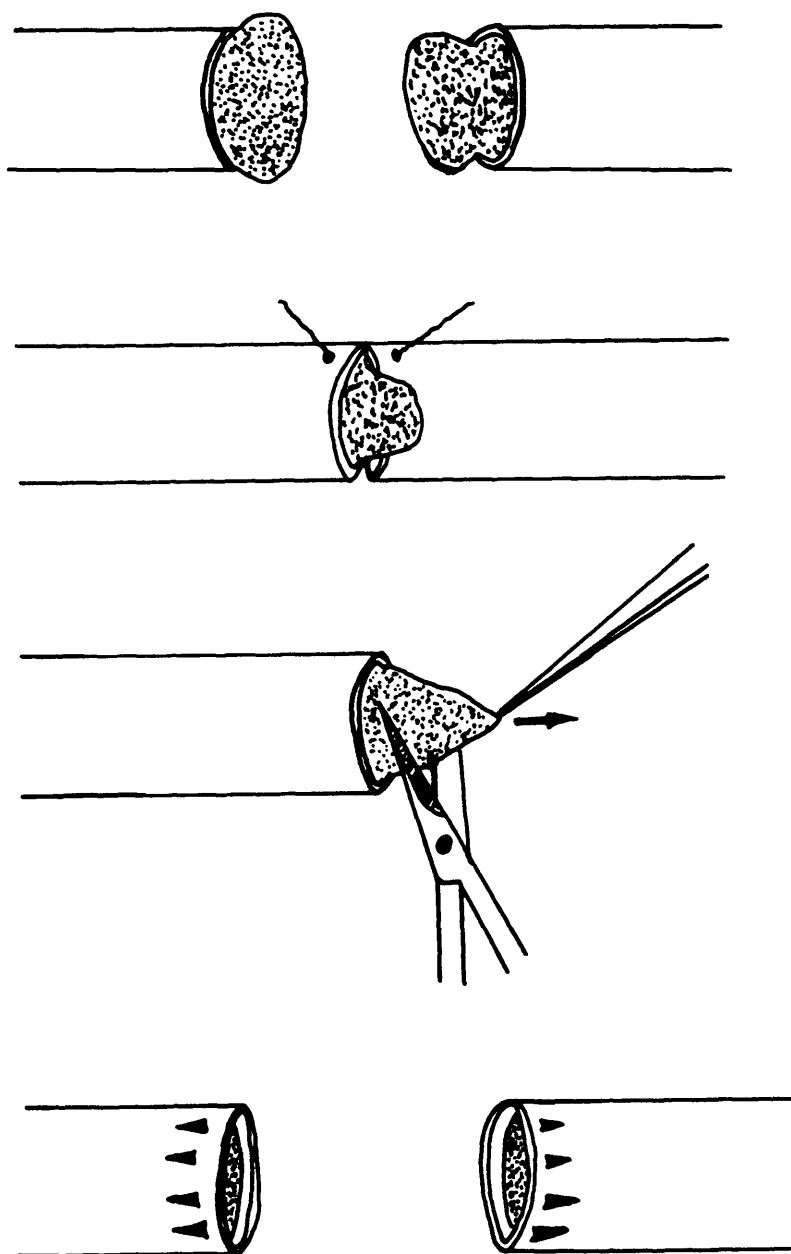
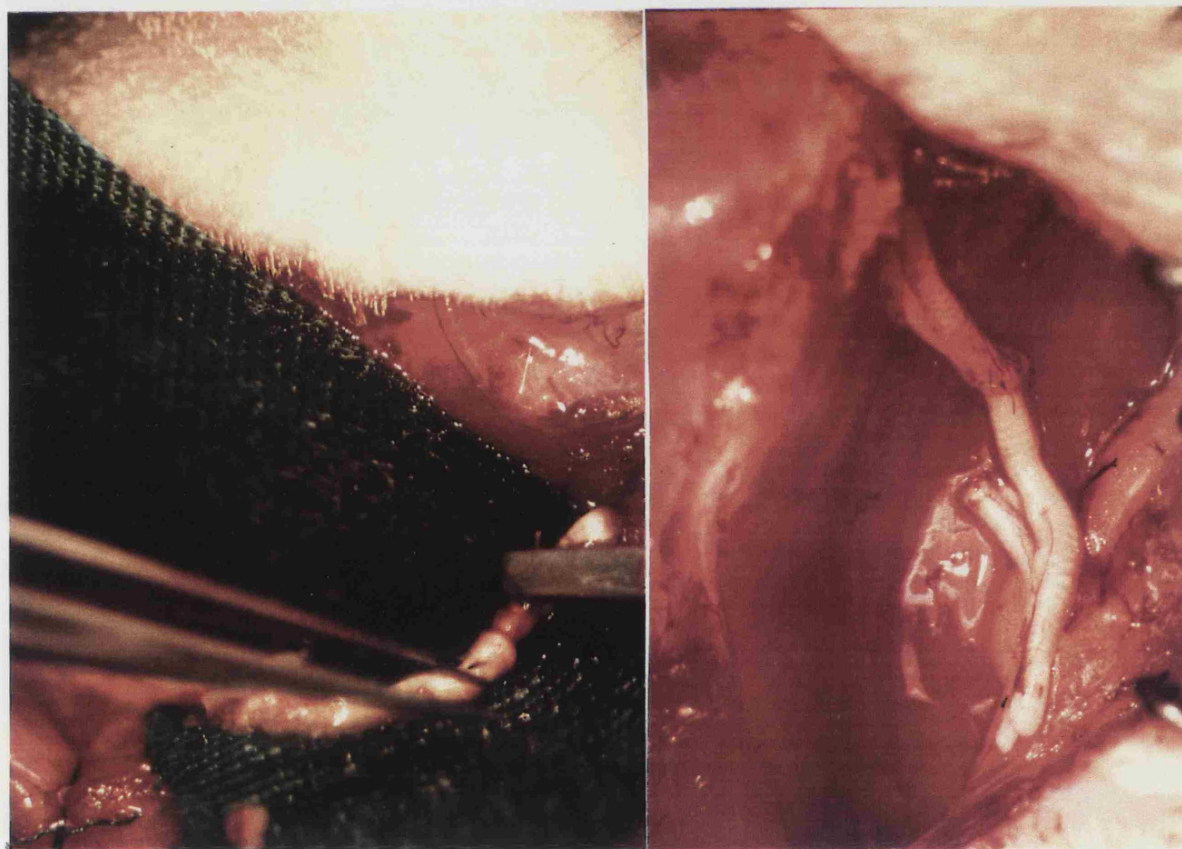


FIG. 15: Detalle de la preparación del nervio previo a la colocación del injerto

Una vez seccionado el nervio se procede a la sutura de la parte proximal del injerto con la parte proximal del nervio. Se realiza una sutura epineural con nylon de 10-0 (no reabsorbible), realizando el afrontamiento de los cabos mediante una técnica visual, que enfrenta entre si los vasos epineurales que se suelen localizar a nivel dorsal del nervio, y el tejido conectivo situado bajo el nervio y que lo une a los planos aponeuróticos subyacentes.



Imágenes que representan el momento de la sutura la de la izquierda y el cabo proximal, una vez suturado, a la derecha.

Esta sutura epineural se realiza poniendo seis puntos alrededor de la unión entre los cabos.

Cabe destacar el hecho de que, para evitar el desgarro del epineuro, se realiza una sutura epineural con apoyo perineural, DURAN, 1983 (41), como si de un nervio monofascicular se tratara.

Se realiza una maniobra análoga para preparar los extremos distales de nervio e injerto pero seccionando una cantidad mayor de injerto que en el cabo proximal, puesto que aquí teníamos colocado un punto de 6-0 para marcar y manejar el extremo distal. Se hace afrontamiento y sutura de los cabos como hemos hecho en el extremo proximal.

Con las maniobras de preparación del injerto, este ha quedado reducido a una longitud de 8 ó 10 mm., que es la longitud definitiva del injerto.

CIERRE

Una vez colocado el injerto, sin traccionar de él, procedemos al cierre por planos, uniendo los grupos musculares antes separados mediante sutura reabsorbible de PROLENE de 7-0 o de 6-0.

Posteriormente se cierra la piel mediante sutura por puntos de seda de 3-0.

REANIMACION

Tras limpiar la herida de la rata con suero fisiológico estéril, se pinta con Betadine y se procede a reanimar a la rata, para lo cual se deja de administrar el anestésico inhalatorio. Con esto la rata se despierta de forma espontánea, sin mas cuidados posteriores que vigilar la temperatura del habitáculo, pues con esta anestesia se tiene tendencia a la hipotermia, así como controlar que la rata recupere su respiración espontánea y su movilidad normal.

EXTRACCION DEL INJERTO PARA SU ANALISIS

Para realizar el análisis del nervio, se procede a reintervenir a la rata a los 3 meses de la colocación del injerto.

El método utilizado es similar al anteriormente expuesto para la extracción del segmento nervioso que posteriormente se injertó, excepto en algunos aspectos.

El campo quirúrgico se hizo mas amplio tanto en piel como en músculo, además el músculo se seccionó para obtener una mayor visibilidad y tener la posibilidad de seccionar el nervio lo mas lejos posible de la zona del injerto.

La rata fue sacrificada mediante sobredosis

con éter, posteriormente se liga y secciona la arteria femoral a nivel de hueco popliteo, para obtener un cabo distal mas largo del nervio.

Una vez expuesto el nervio en toda su longitud, en el extremo distal se pone un punto de sutura de 7-0 coloreado para indicar que ese extremo es distal, ahora se secciona la parte distal mas allá del punto. Sujetando suavemente por el hilo del punto, procedemos a liberar sin tracción al nervio de las adherencias conjuntivas formadas hasta el extremo mas proximal que sea posible, donde se secciona.

El nervio extraído, siempre sin doblar ni traccionar se coloca sobre una cartulina sujeto por el punto distal, para ser introducido en un recipiente de 2,5 c.c. relleno de grutaraldehído en tampón fosfato, que se utiliza como fijador.

El recipiente con el nervio se debe conservar en nevera durante mas de 24 horas, para ser sustituido el fijador por agua destilada y seguir el posterior tratamiento para su tinción y corte.

TECNICAS MICROSCOPICAS

TINCION

Seguimos las pautas marcadas por NUNN en 1970.

- 1) Fijación durante dos horas, en frío, en

glutaraldehído al 3% en tampón de MILLONIG. Preferimos éste a otros tampones porque su osmolaridad es muy cercana a la del plasma, CARSON y cols., 1973 (31).

2) Lavado en el tampón y tallado del nervio en pequeños fragmentos alargados para que puedan orientarse fácilmente y realizar así cortes transversales y longitudinales.

3) Postfijación con tetróxido de osmio al 2% en el tampón.

4) Lavado en MILLONIG.

5) Deshidratación progresiva hasta acetona de 70 %.

6) Deshidratación completa en acetona pura.

7) Aclaramiento con óxido de propileno.

8) Inclusión en araldita.

Conviene señalar que la fijación debe realizarse inmediatamente después de extraerse el nervio y debe durar el mismo tiempo para todos los nervios, ya que, según han observado OHNISHI y cols., 1974 (107) y (108), cualquier variación en uno de los dos factores, además de provocar artefactos, altera la relación diámetro axonal/espesor de la vaina de mielina, e inutilizando, por tanto, posibles estudios cuantitativos

posteriores.

CORTES SEMIFINOS

De los bloques incluidos en araldita se realizaron cortes de 2 micras que se pegaron con gelatina al porta, CASANOVA, 1974 (32), y se tiñeron con parafenilendiamina, según HÖLANDER y VAALAND, 1968 (57), modificación de la de ESTABLE-PUIG y cols., 1965 (45), y basadas ambas en el método para mielina de SCHULTZE, 1917 (128). Se basa esta técnica en la capacidad que tiene la parafenilendiamina para depositarse sobre las estructuras previamente teñidas con el osmio, con lo que se obtienen imágenes muy netas de la mielina. Una vez teñidos los cortes, se dejan secar y se montan en medio permanente.

VISION CON MICROSCOPIO

Tras la tinción de las preparaciones, se deben estudiar mediante el microscopio óptico, relizandose la valoración de las mismas mediante la evaluación del grado de regeneración axonal, reflejado en la densidad de fibras, en el grosor de las mismas y su agrupamiento en pequeños acúmulos de axones, causados por la proliferación de pequeños axones hacia la porción distal, tal como hemos estudiado en la introducción.

Es necesario, con la finalidad de evaluar la utilidad de la técnica, el estudio de la estructura del nervio. Pues al ser el nervio ciático de rata tan

pequeño, al realizar la sutura, era necesario el apoyo en el perineuro, lo que podría evidenciar alteraciones histopatológicas.

Igualmente se hace precisa la evaluación de el grado de degeneración axonal que se mantiene al cabo de tres meses, puesto de manifiesto por la presencia de cuerpos globoides de mielina, así como de células xantomatosas.

Para que la evaluación sea más objetiva, habida cuenta de que el simple estudio cualitativo puede ser insuficiente e incluso subjetivo, creemos conveniente realizar un estudio semicuantitativo por un sistema de valoración por medio de cruces para los parámetros que muestran la regeneración y degeneración, como pueden ser agrupamiento axonal, mielinización o cuerpos de mielina degenerativos y células xantomatosas. A estos datos se le añaden otros como son: la desestructuración del fascículo, rotura del perineuro o crecimiento axonal retrógrado, puntos todos ellos negativos.

A las cruces les damos un valor de 1 a 4, haciendo la suma de cada nervio y la media de cada grupo. Para evitar subjetividad u otros errores creemos conveniente hacer la medida de una forma ciega, dando un numero a cada nervio sin conocer de cual se trata.

RESULTADOS

Tras la inserción del injerto nervioso, y despues de un periodo de tres meses se procede a la extracción del injerto para su posterior análisis.

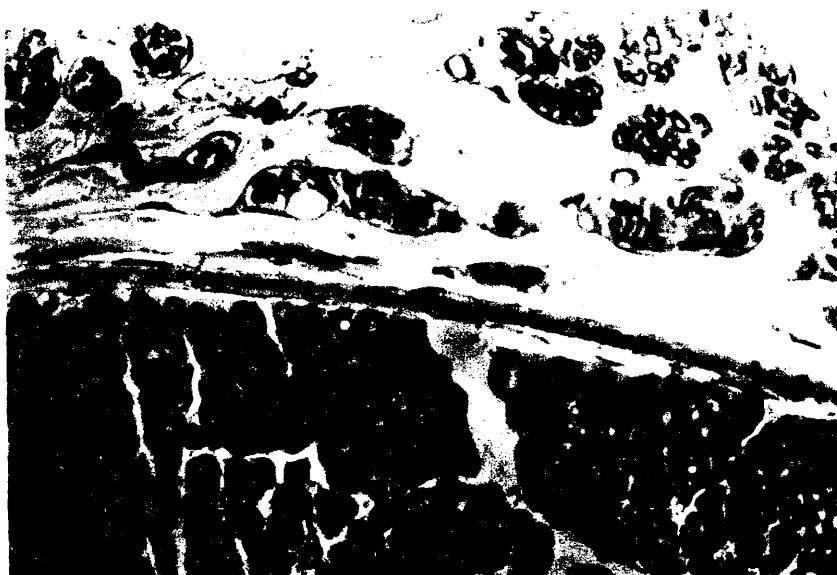
Este análisis se realizó con microscopía óptica y con tinción de tetroxido de osmio, con la que se obtienen los siguientes resultados.

En general, en todos los injertos se registró una muy buena regeneración, tanto a nivel del cabo distal como del injerto intermedio, no evidenciándose una diferencias importantes entre unos y otros nervios.

En gran cantidad de ellos se evidenció rotura de la vaina perineural, con salida de tejido axonal al exterior, como ahora estudiaremos.

A continuación procedemos al estudio detenido de los hallazgos más importantes encontrados en cada nervio. Omitimos los resultados en los cabos proximales pues en ellos no se evidencian alteraciones que permitan diferenciarlos de nervios normales, salvo en algunos casos puntuales que tienen crecimiento retógrado de yemas axonales procedentes de la regeneración, como se vé en la fotografía procedente del nervio G.4.5. Asi mismo, se puede observar que estos nervios, junto con axones de gran tamaño y gruesas vainas de mielina presentan otros axones de tamaño mas pequeño y vaina de mielina mas fina.

Todo ello se ofrece ilustrado en las siguientes fotografías:



Fotografía que muestra el crecimiento retrógrado de axones a nivel de un cabo proximal.

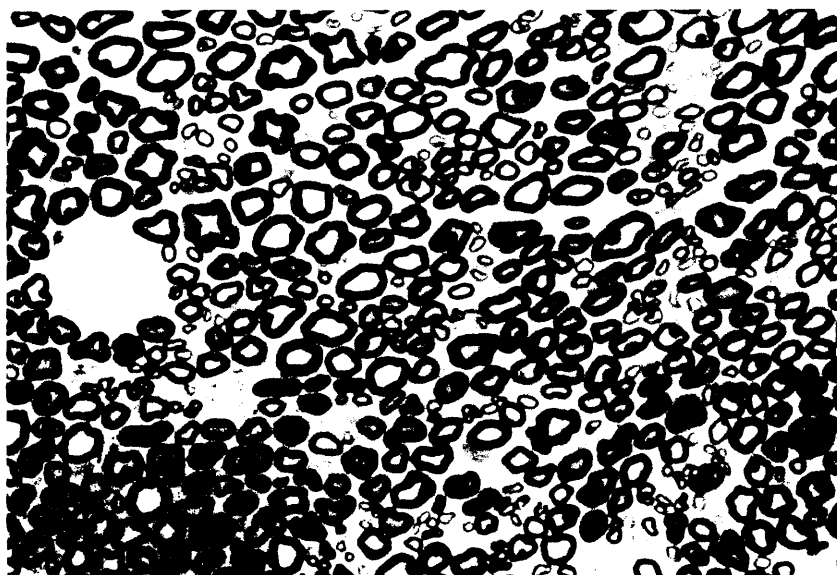


Imagen de un segmento proximal de un injerto que muestra una apariencia normal.

A continuación podemos analizar los nervios

injertados, uno a uno, en los aspectos mas importantes, ilustrado por fotografias cuando ello sea posible.

GRUPO G.1.: Trasplante homólogo en fresco.

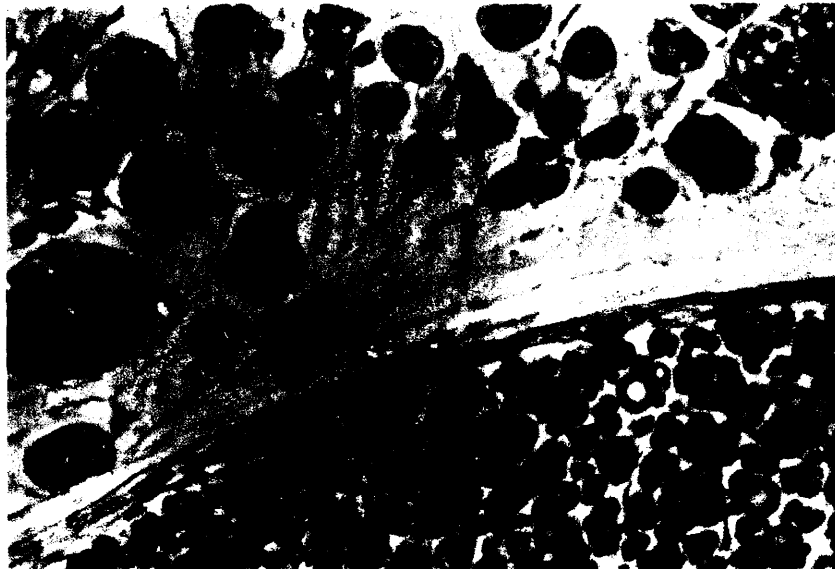
Nervio G.1.1:

- Segmento intermedio: Presenta en general una buena regeneración axonal con predominio de axones intermedios y gruesos sobre los pequeños, presenta pocos cuerpos globulosos de mielina y algunas células xantomatosas aisladas. El crecimiento de los axones se realiza dentro de unos agrupamientos característicos del proceso regenerativo.

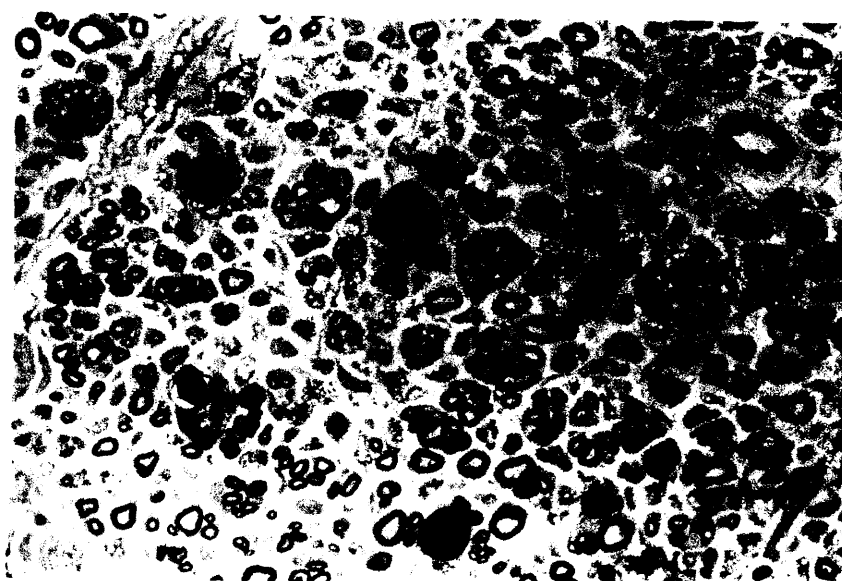


Por fuera del perineuro se pueden evidenciar algunos axones que representan crecimiento

extrafascicular como se vé en la fotografía.

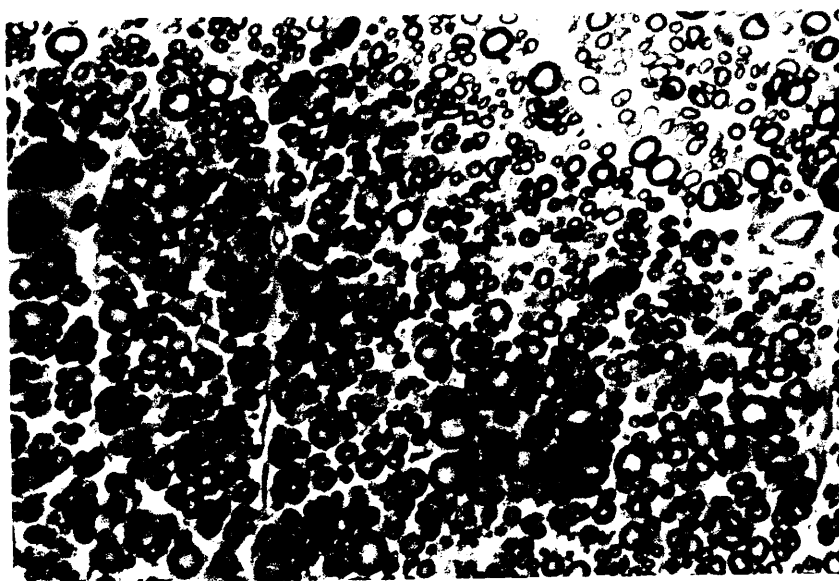


- Segmento distal: Presenta algunos cuerpos de mielina y muy abundantes células xantomatosas. Tiene agrupamientos axonales con una densidad moderada, con cilindroejes de tamaño intermedio y distribución ligeramente irregular. La mielina en general tiene un grosor regularmente moderado.

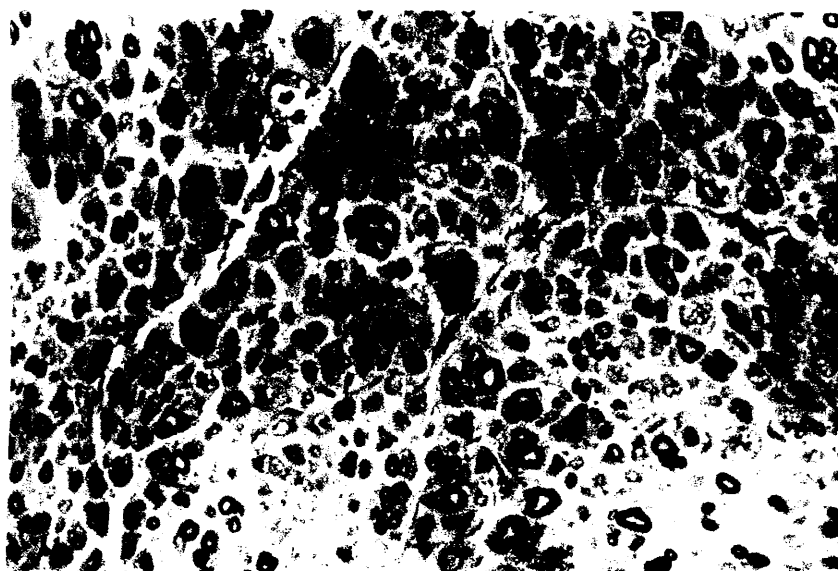


Nervio G.1.2.

- Segmento intermedio: Presenta características similares al injerto anterior, con algunos cuerpos de mielina y más células xantomatosas.

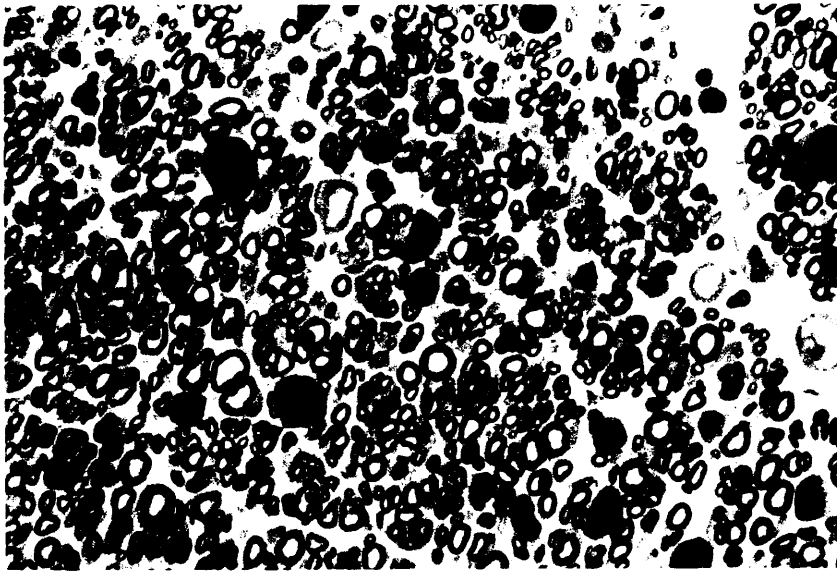


- Segmento distal: Tiene menos cuerpos de mielina y células xantomatosas, con una densidad de axones análoga al nervio anteriormente expuesto, con agrupamientos de escasos axones (4 a 6).

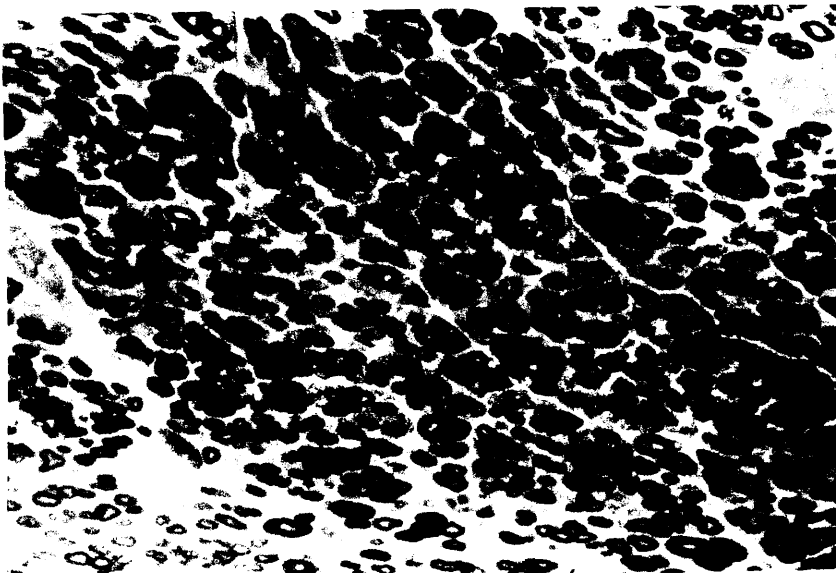


Nervio G.1.3.

- Segmento intermedio: Abundancia de restos mielínicos, con relativa uniformidad de fibras y presencia de agrupamientos axonales. Tiene moderado crecimiento periférico.

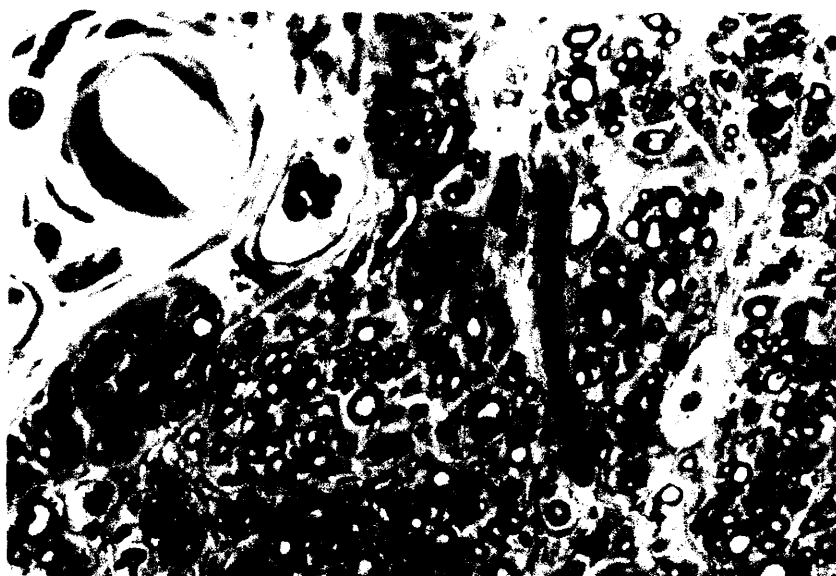


- Segmento distal: Densidad elevada de fibras finas, con algunas fibras de mayor grosor y pocas células xantomatosas. Agrupamientos irregulares de axones.



Nervio G.l.4.

- Segmento proximal: A pequeño aumento se observa en el microscópio: rotura del perineuro con desestructuración del fascículo y salida de agrupamientos axonales a nivel de un punto de sutura que observamos en la imagen a mayor aumento, formándose microfascículos rodeados de tejido conjuntivo a este nivel. La densidad es moderada con mielina irregular.



- Segmento distal: Presencia de agrupamientos axonales de fibras irregulares, con grosores intermedios

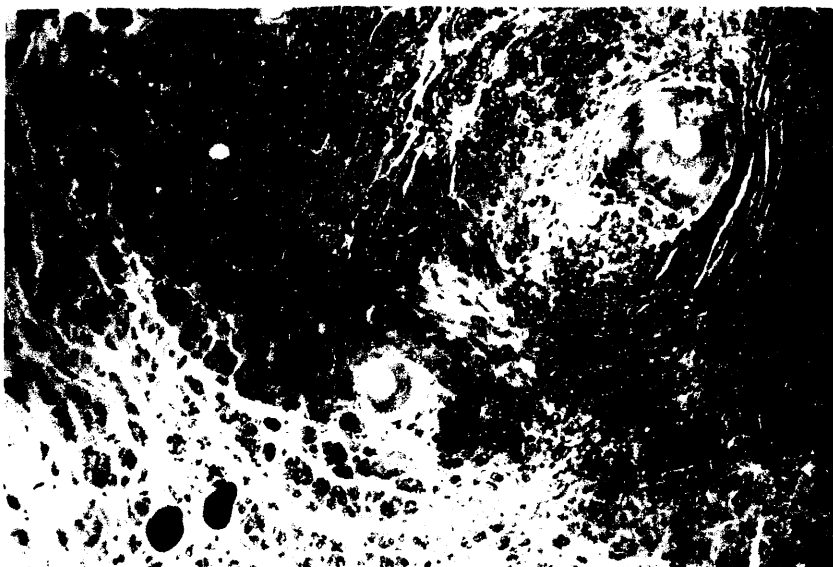
y bajos, pocos cuerpos de mielina y alto número de células xantomatosas.



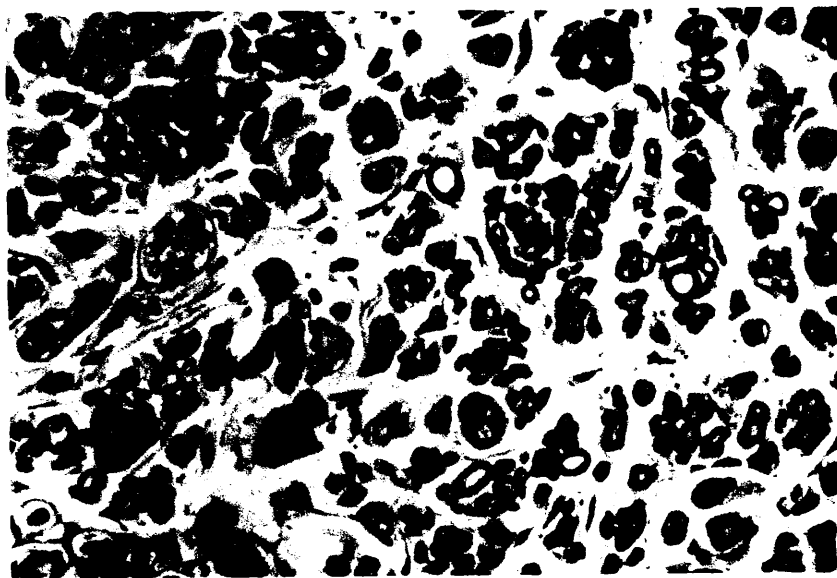
Escasos filetes epineurales.

Nervio G.1.5.

- Segmento intermedio: A pequeño aumento, se observa desestructuración total por presencia de punto de sutura y reacción inflamatoria de cuerpo extraño. Tiene salida de microfascículos al epineuro.

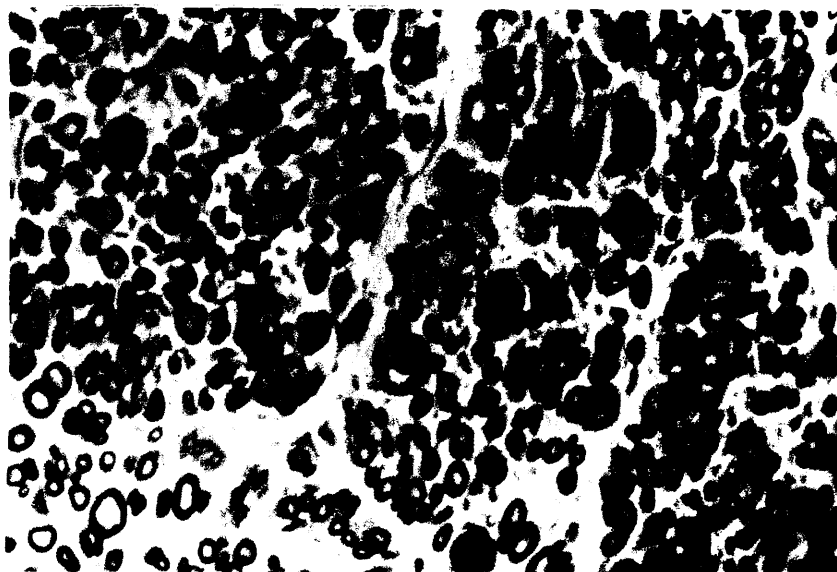


A mayor aumento presenta escasa densidad de fibras con agrupamientos rodeados de tejido fibroso, con cuerpos de mielina y mielinización moderada.



- Segmento distal: A pequeño aumento tiene importante crecimiento periférico, probablemente debido a la desestructuración del segmento intermedio.

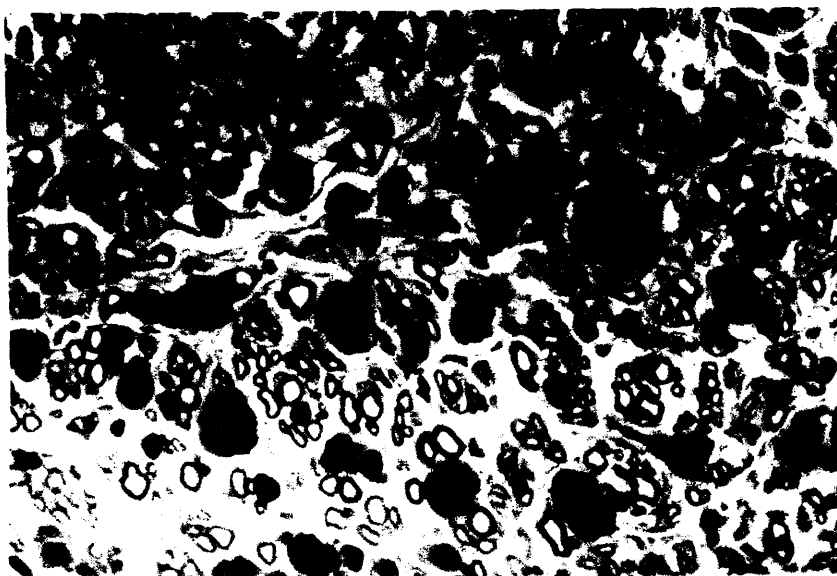
A mayores aumentos se observan cuerpos de mielina y algunas células xantomatosas, con ligera agrupación de fibras de grosor intermedio.



GRUPO G.2.: Trasplante homólogo
criopreservado.

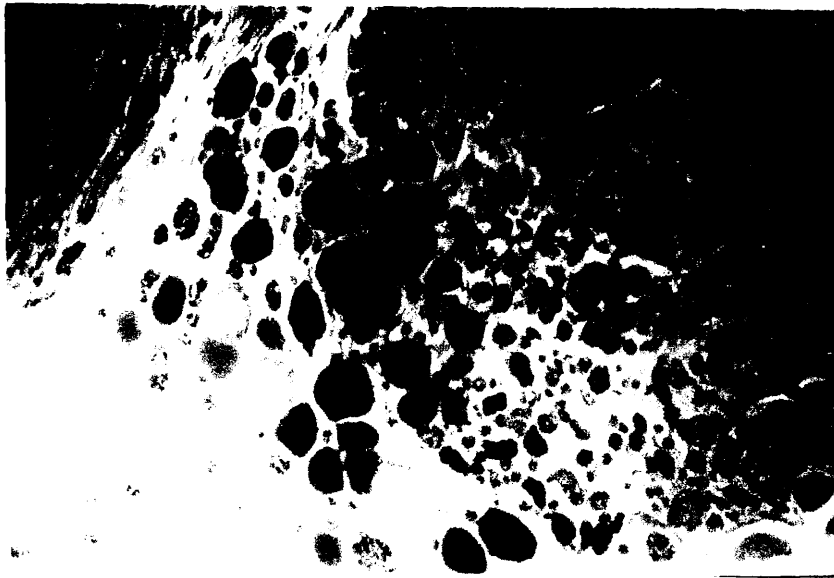
Nervio G.2.1.

- Segmento intermedio: Abundantes cuerpos de mielina, sin evidenciarse apenas células xantomatosas, con agrupamientos de axones finos y mielización similar al grupo G.1.



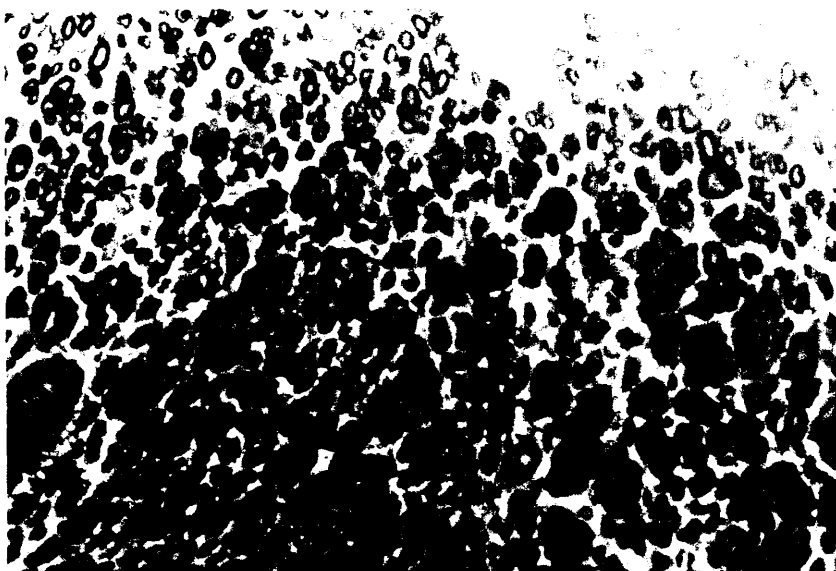
A pequeño aumento se observa la presencia de los cuerpos de mielina antes mencionados, con rotura del

perineuro y salida de microfascículos al intersticio de la masa muscular.



- Segmento distal: A pequeño aumento se observa la salida de microfascículos al epineuro.

A mayor aumento es evidente la presencia de gran cantidad de pequeños agrupamientos de axones finos moderadamente mielinizados.



Nervio G.2.2.

- Segmento intermedio: A este nivel en la preparación se aprecia que existe borrosidad en algunos puntos de la circunferencia del perineuro, lo que facilita el proceso de crecimiento axonal perifascicular.

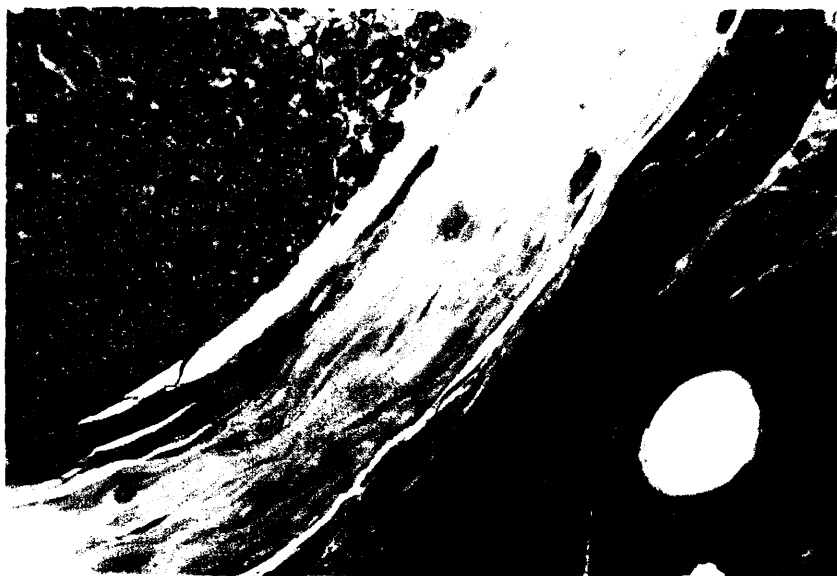
A nivel del fascículo es posible apreciar la presencia de agrupamientos de axones de mediano tamaño, similar a la preparación anterior, sin evidenciarse cuerpos de mielina y con pocas células xantomatosas.

- Segmento distal: Pequeños restos mielínicos con pequeñas agrupaciones de axones finos y bien mielinizados, con densidad fibrilar moderada.



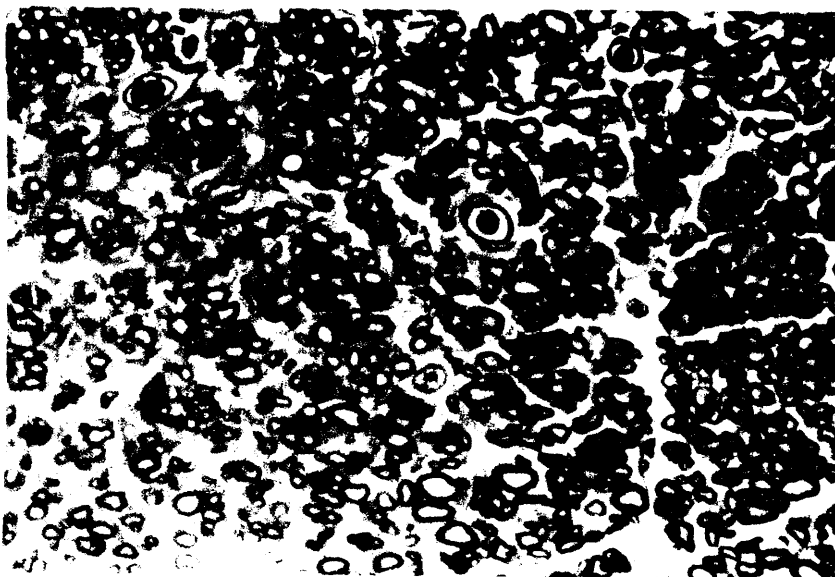
Nervio G.2.3.

- Segmento intermedio: A poequeño aumenmto es posible encontrar la presencia de un punto de sutura epineural, que origina una reacción inflamatoria de célula gigante de cuerpo extraño, muy proxima a una zona del perineuro que se encuentra importántemente fibrosada, a la vez que existen algunos microfascículos de localización epineural, pero sin demasiada desestructuración de los elementos del nervio.

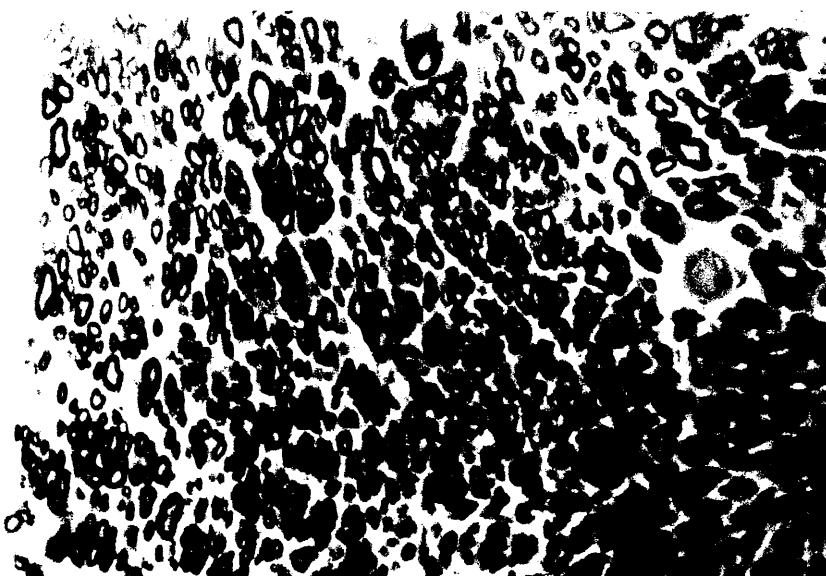


A mayor aumento tiene agrupamientos de axones

pequeños y medianos sin apenas cuerpos de mielinas ni células xantomatosas.

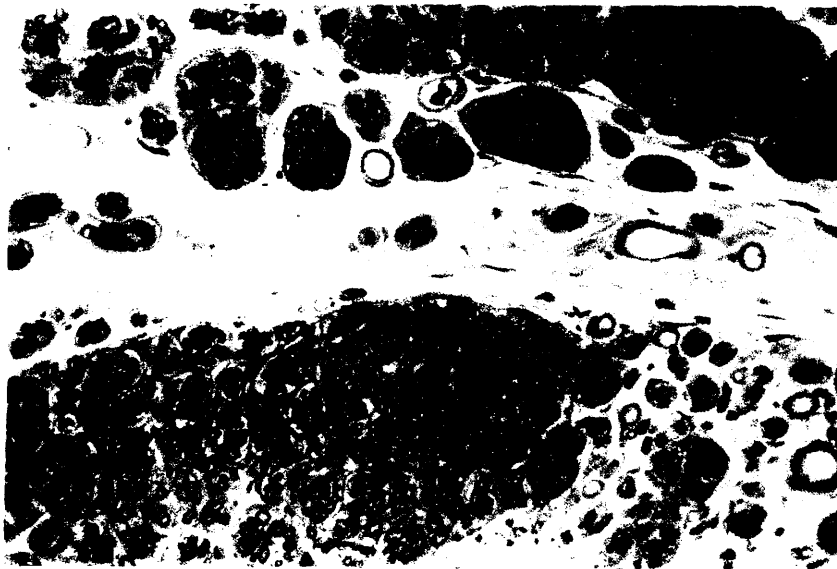


- Segmento distal: Dentro del fascículo se observa agrupación densa de pequeñas fibras mielinizadas.



Nervio G.2.4.

- Segmento intermedio: Rotura del perineuro, con crecimiento microfascicular y fibrosis, presentando agrupamientos de escasas fibras.

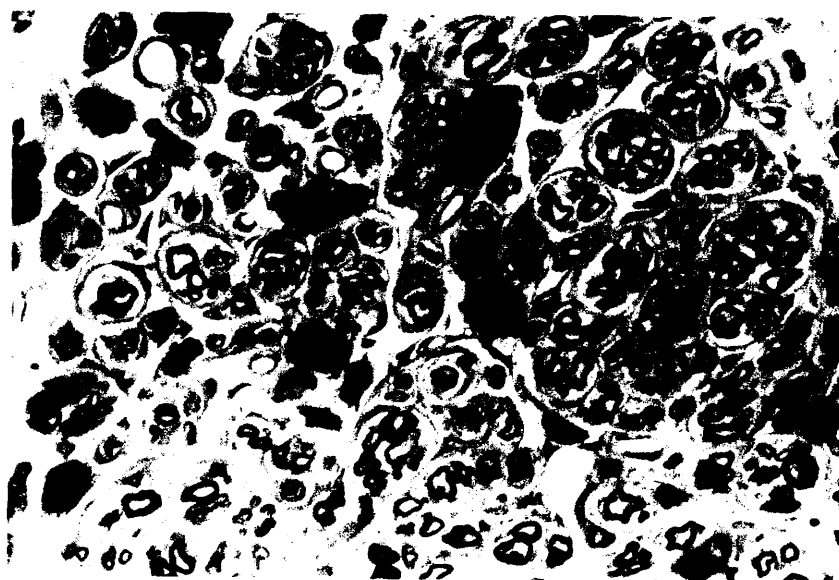


- Segmento distal: No valorable por estar escasamente teñido.

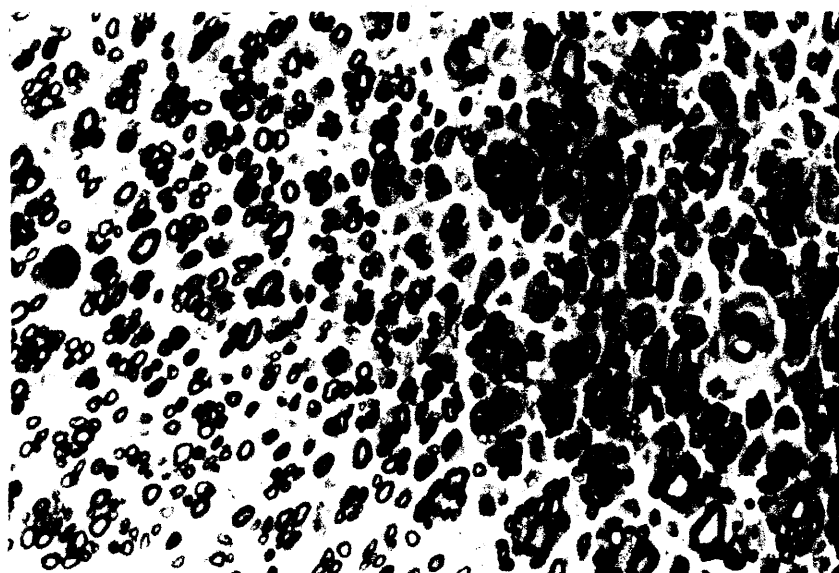
Nervio G.2.5.

- Segmento intermedio: Fascículos bien individualizados, con crecimiento epineural y formación de agrupaciones rodeadas de discreta fibrosis y axones

de .mediano tamaño. Presenta abundantes cuerpos de mielina.



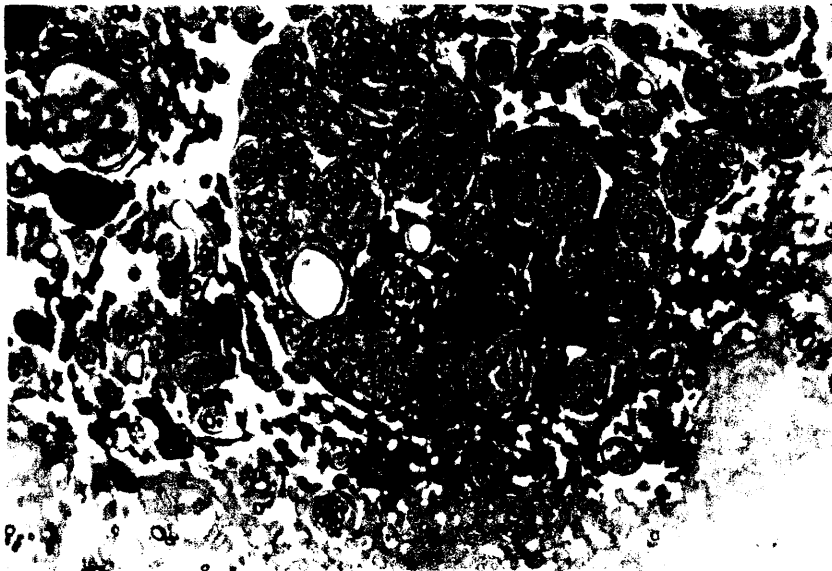
- Segmento distal: Escasos resto de mielina con buena regeneración evidenciada en presencia de impporrante número de agrupamientos de fascículos pequeños, pero bien mielinizados, con algunas células xantomatosas en el intersticio.



GRUPO G.3.: Trasplante heterólogo en fresco.

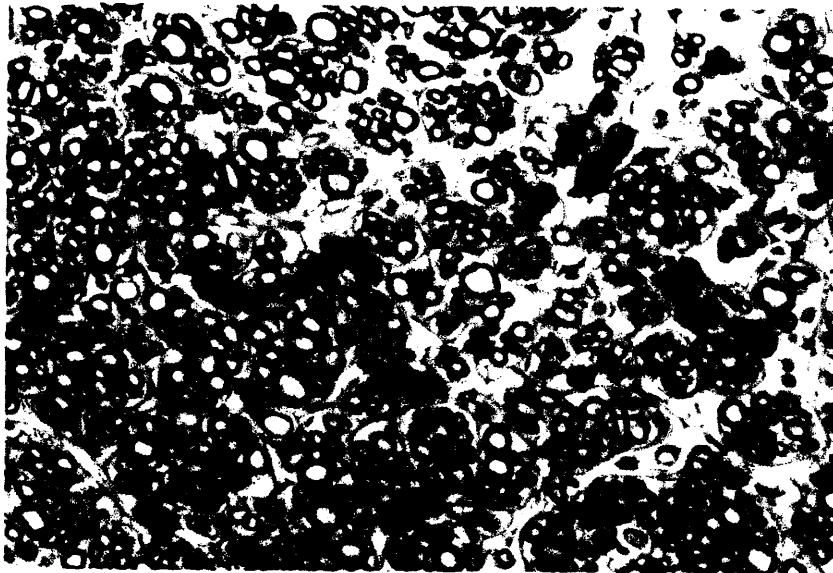
Nervio G.3.1:

- Segmento intermedio: A pequeño aumento se evidencia rotura del perineuro que engloba algunos lobulillos adiposos que se hacen intrafasciculares, con importante crecimiento epineural.

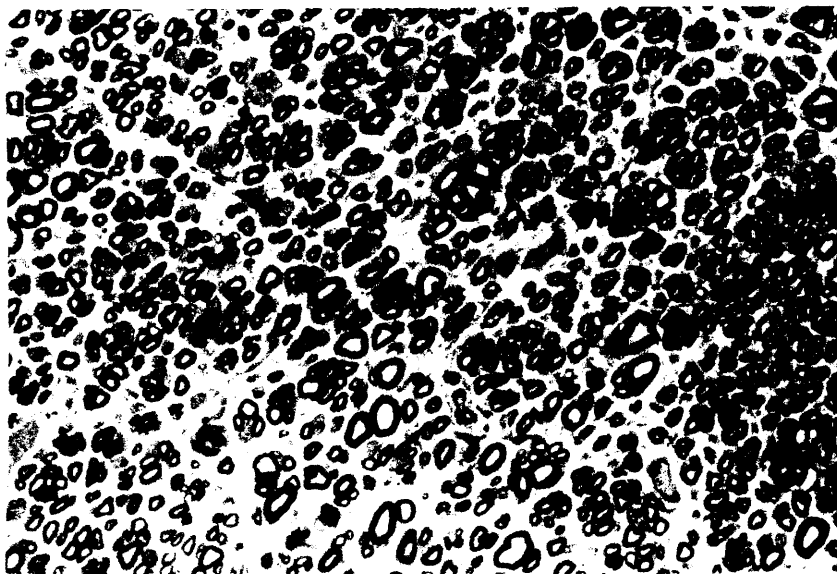


A mayor aumento se evidencian restos mielílicos, con escasas células xantomatosas. Los axones se presentan en agrupaciones de diez a quince unidades,

de grosor variable pero predominantemente pequeñas o medianas, de mielinización delgada y separadas por fascículos conjuntivos finos.

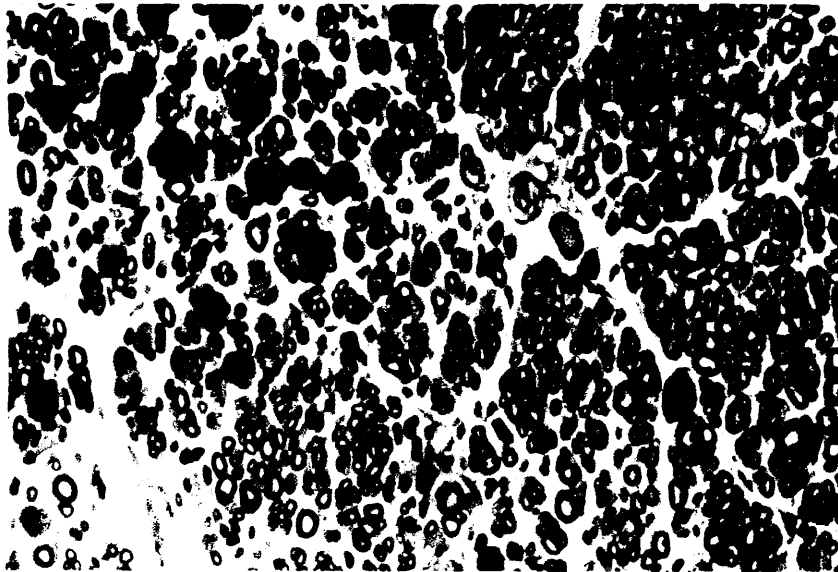


- Segmento distal: Ligerísimo crecimiento epineural a pequeño aumento con restos mielínicos escasos y algunas células xantomatosas. Agrupaciones axonales de densidad alta con fibras pequeñas bien mielinizadas.



Nervio G.3.2.

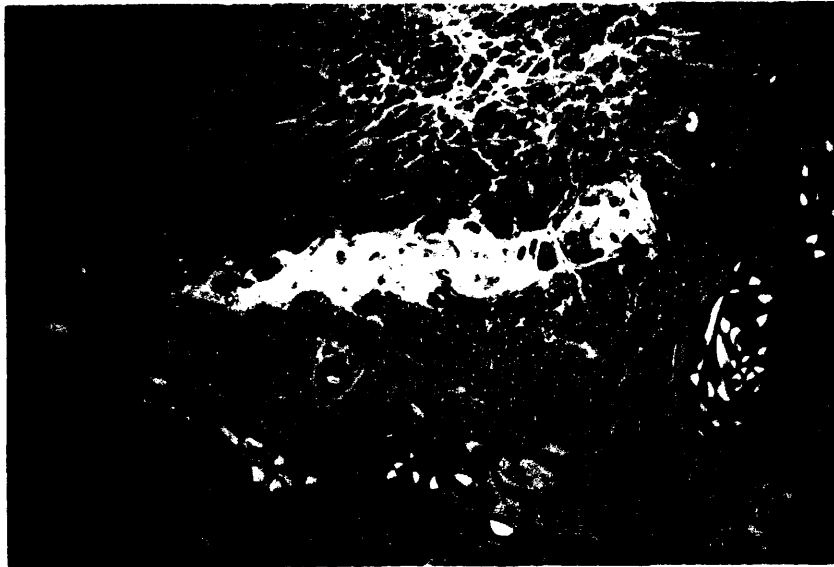
- Segmento intermedio: Proliferación de agrupamientos de pequeño grosor con finos axones bien mielinizados generalmente, con abundantes restos mielínicos y crecimiento extrafascicular.



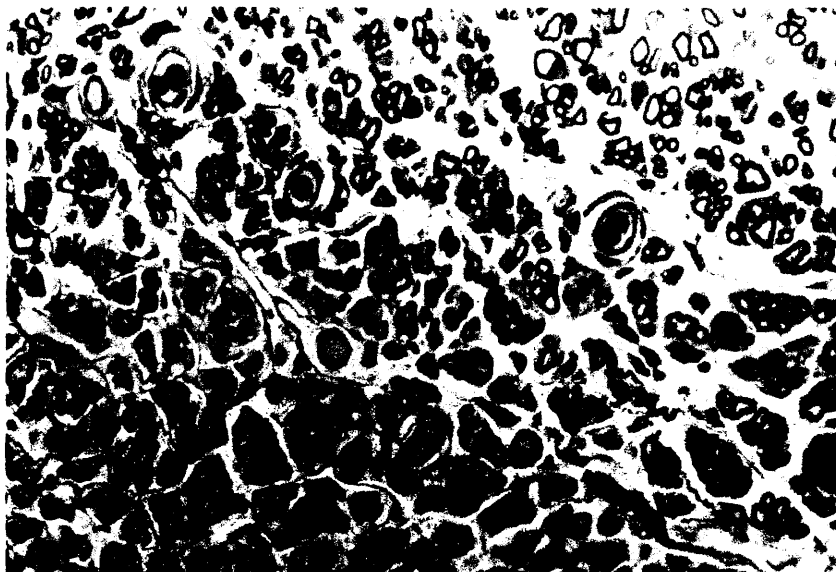
-Segmento distal: No valorable al no haber tejido nervioso en la preparación histológica.

Nervio G.3.3.

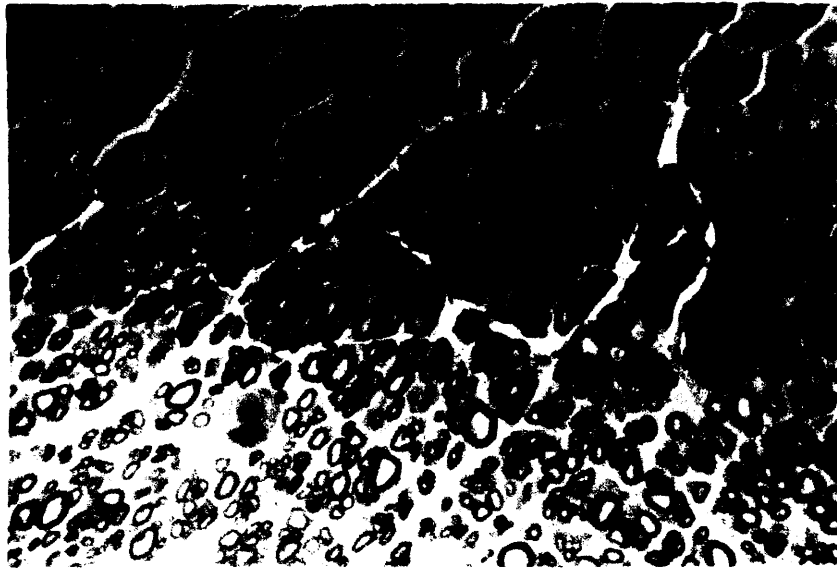
- Segmento intermedio: A pequeño aumento se evidencian puntos de sutura con reacción inflamatoria que rompen el perineuro saliendo microfascículos al epineuro.



A gran aumento es posible ver crecimiento laxo de agrupamientos axonales de pequeño grosor moderadamente mielinizados, con abundante tejido conjuntivo que los separa.

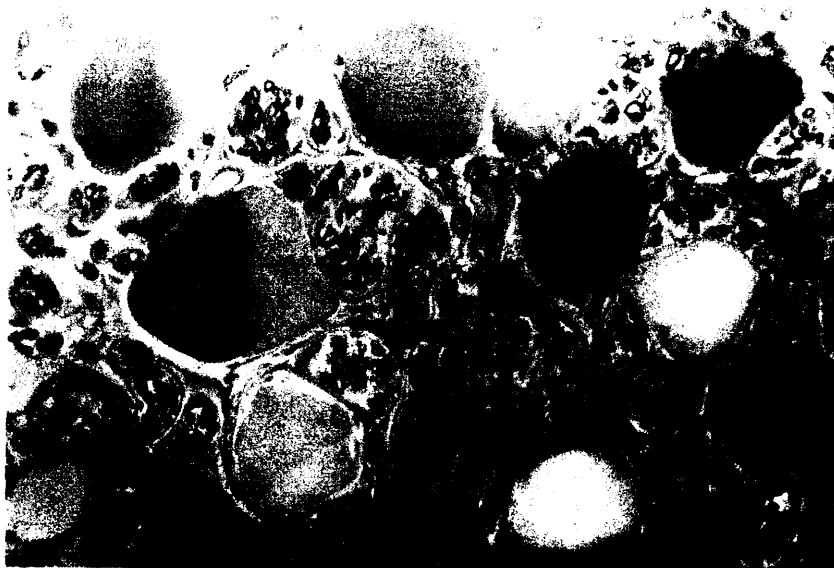


- Segmento distal: Gruesos restos mielínicos con escaso agrupamiento axonal y presencia de axones pequeños y medianos bien mielinizados, sobre todo estos últimos. Mas denso que el cabo intermedio.

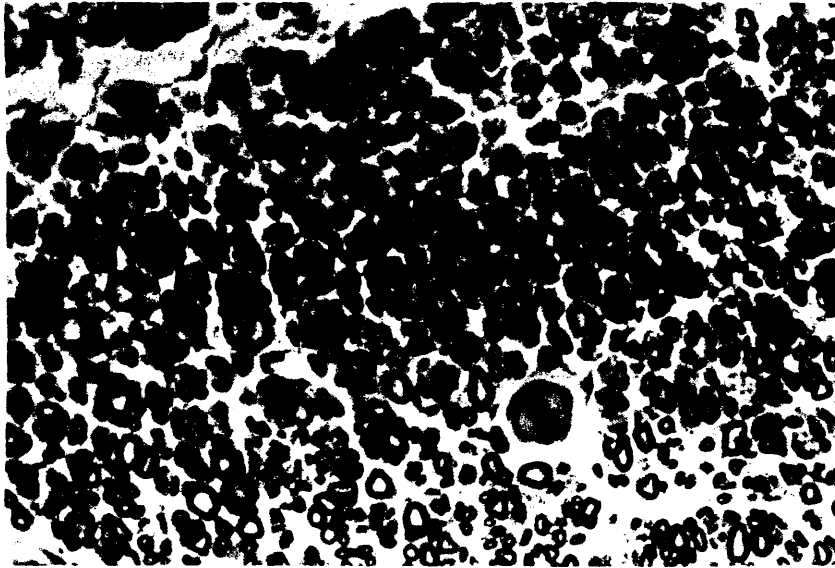


Nervio G.3.4.

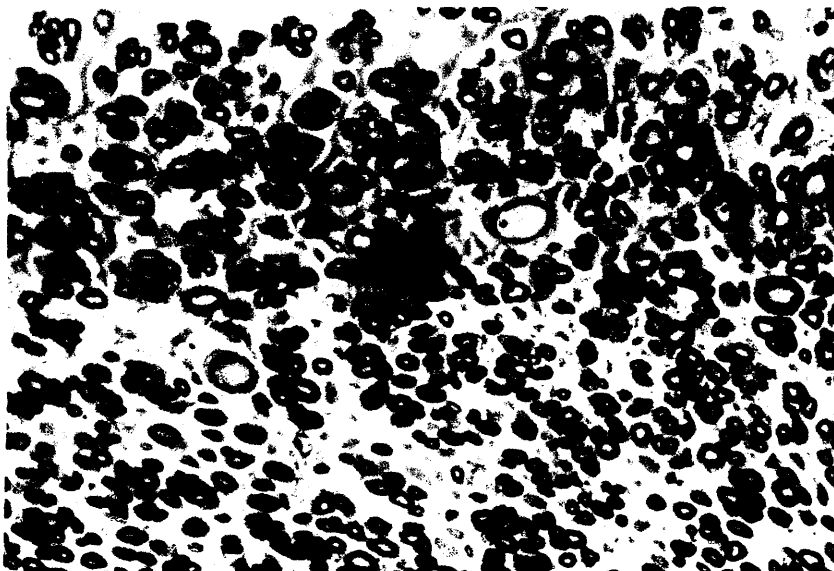
- Segmento intermedio: Presencia de microfascículos periféricos englobados dentro del tejido muscular.



En el tejido nervioso existe escasez de restos mielínicos, con algunos agrupamientos axonales de fibras pequeñas, junto con algunos axones gruesos bien mielinizados.

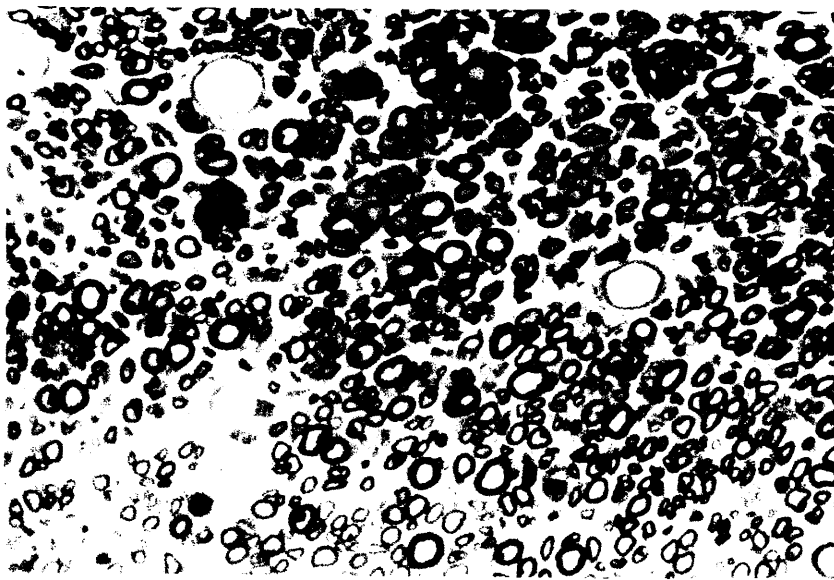


- Segmento distal: Escasos restos globoides mielínicos con pocos agrupamientos axonales, siendo estos de pequeño tamaño cuando se presentan, junto con algunas fibras gruesas escasas, con otras de menor grosor. En general buena mielinización.



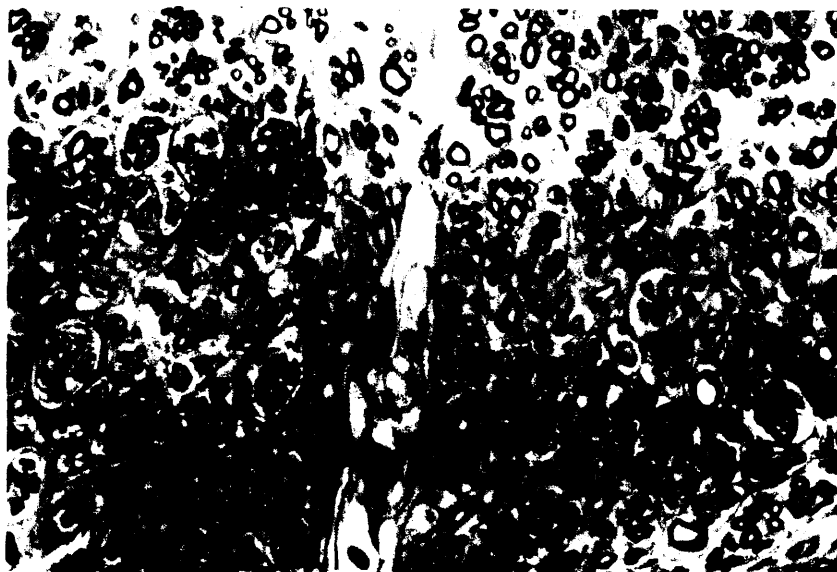
Nervio G.3.5.

- Segmento intermedio: Fascículos bien individualizados de pequeño tamaño, con conservación del perineuro, presencia de algunos restos mielínicos, junto con algunos agrupamientos axonales poco individualizados, axones de mediano calibre con buena mielinización.



- Segmento distal: Signos de regeneración con agrupamientos axonales separados por tabiques

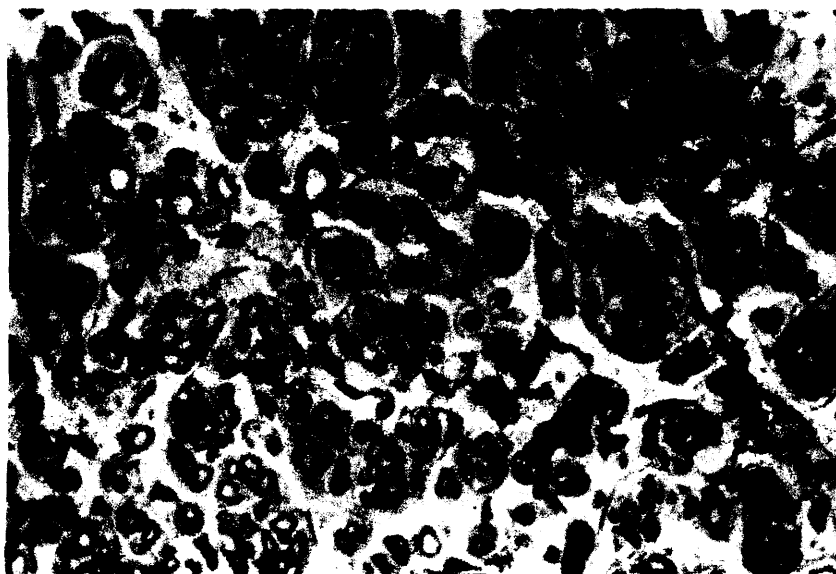
conjuntivos, fibras nerviosas delgadas con moderada mielinización.



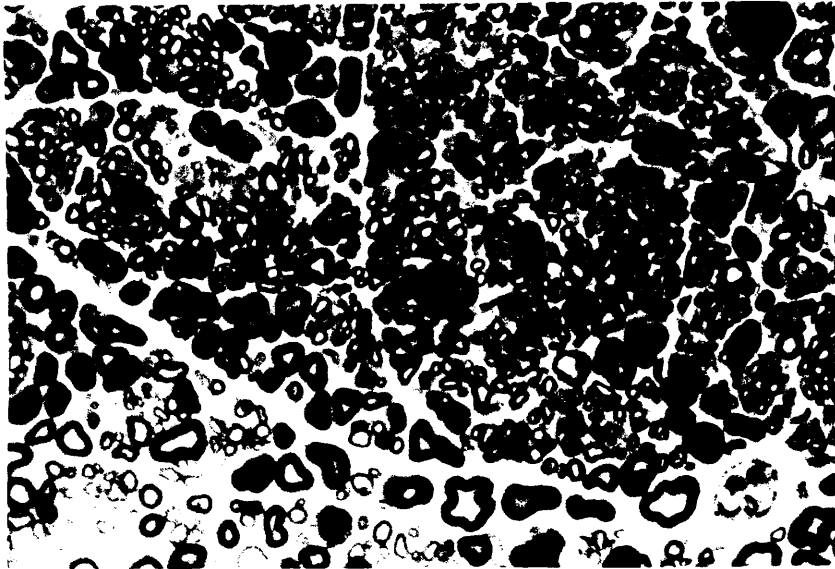
GRUPO G.4.: Trasplante heterólogo
criopreservado.

Nervio G.4.1.

- Segmento intermedio: Presencia de agrupamientos axonales escasos, con fibras pequeñas o medianas y gran laxitud global.

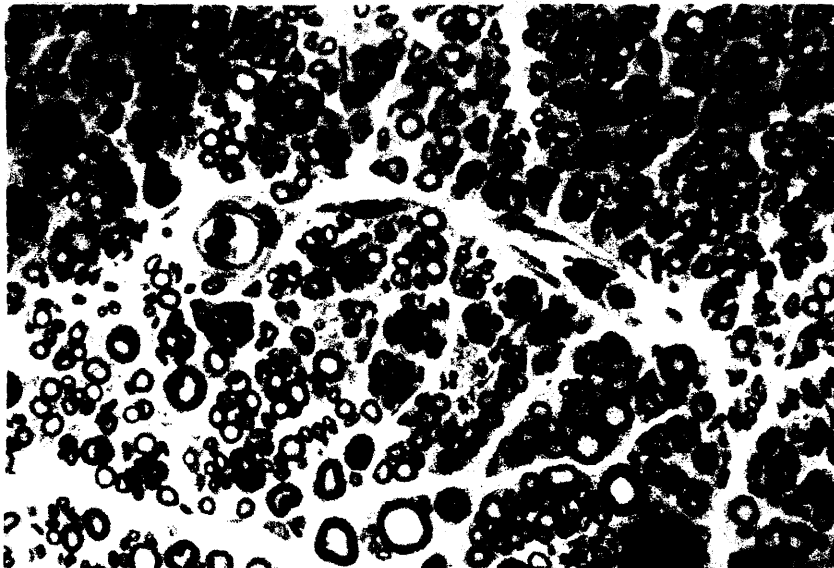


- Segmento distal: Regeneración evidente, con abundancia de axones de pequeño tamaño, escasamente mielinizados, en algunos agrupamientos, junto con algunos axones gruesos bien mielinizados.



Nervio G.4.2.

- Segmento intermedio: Presencia de algunos axones muy gruesos y bien mielinizados, junto con otros axones finos que se presentan en agrupamientos. Escasos restos mielínicos.

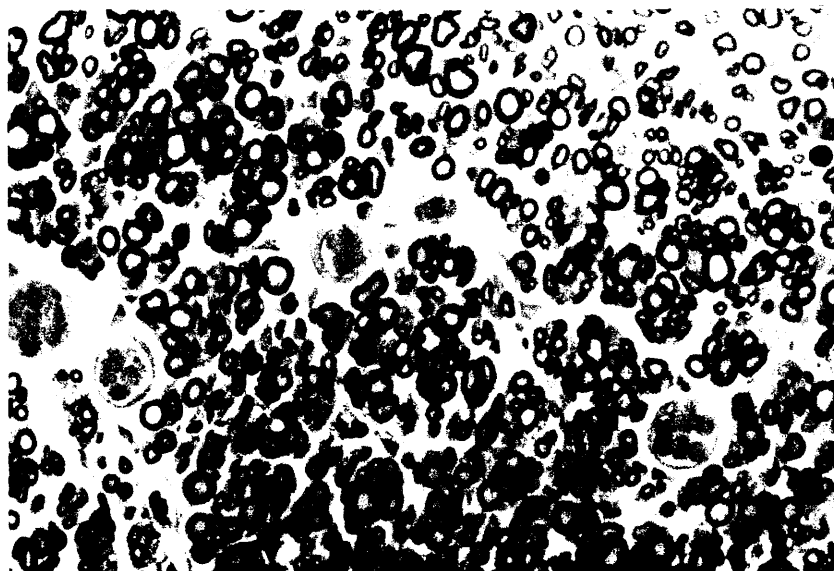


- Segmento distal: Agrupamiento de axones de tamaño variable con predominancia de pequeño calibre, bien delimitados junto con escasos restos mielínicos y células xantomatosas.

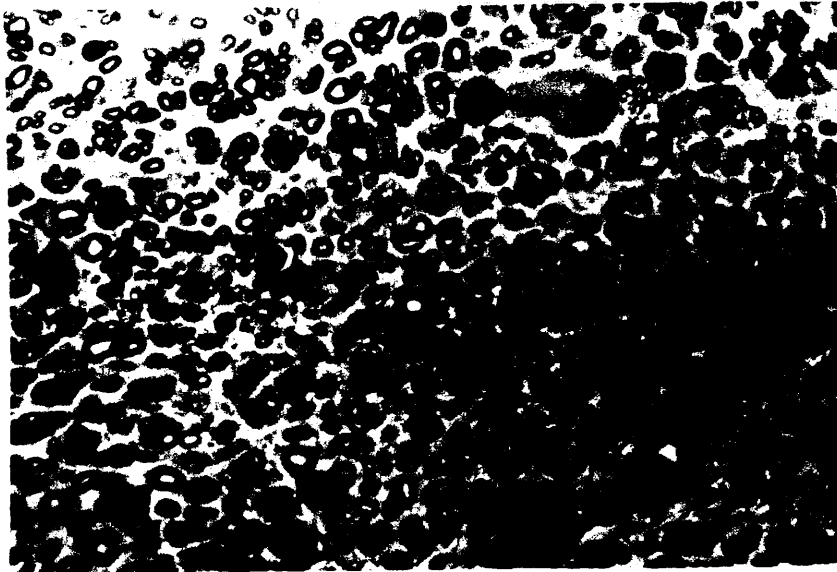


Nervio G.4.3.

- Segmento intermedio: Abundantes agrupamientos de axones de mediano calibre con mielización moderada. Escasos restos de mielina con algunas células xantomatosas aisladas. En general se conserva la estructura del fascículo.

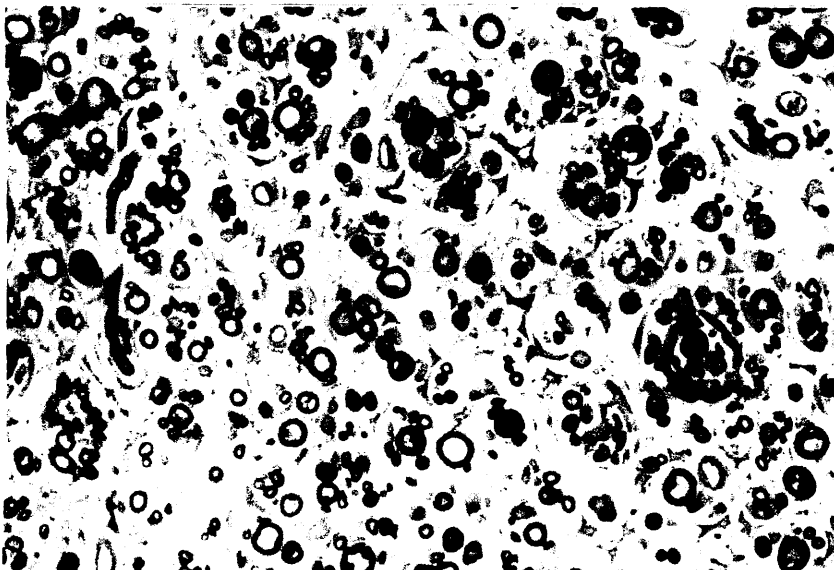


- Segmento distal: Abundante células xantomatosas junto con algunos restos mielínicos, presencia de agrupamientos de pequeños axones en algunas zonas con otras zonas de axones aislados mas gruesos.

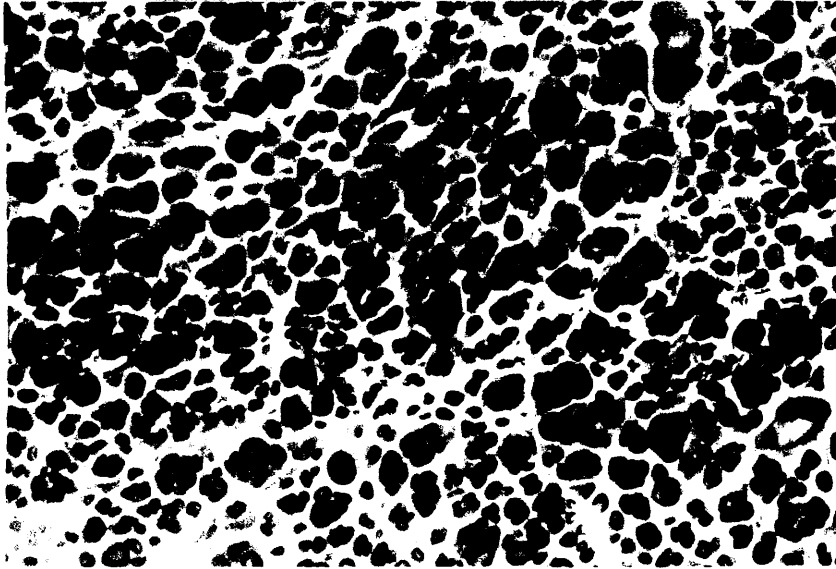


Nervio G.4.4.

- Segmento intermedio: Punto de sutura yuxtaperineural, que provoca inflamación y fibrosis con salida de microfascículos estenosados por la fibrosis, escasas fibras axonales que son de mediano tamaño, cuando se presentan, junto con algunos restos mielínicos.

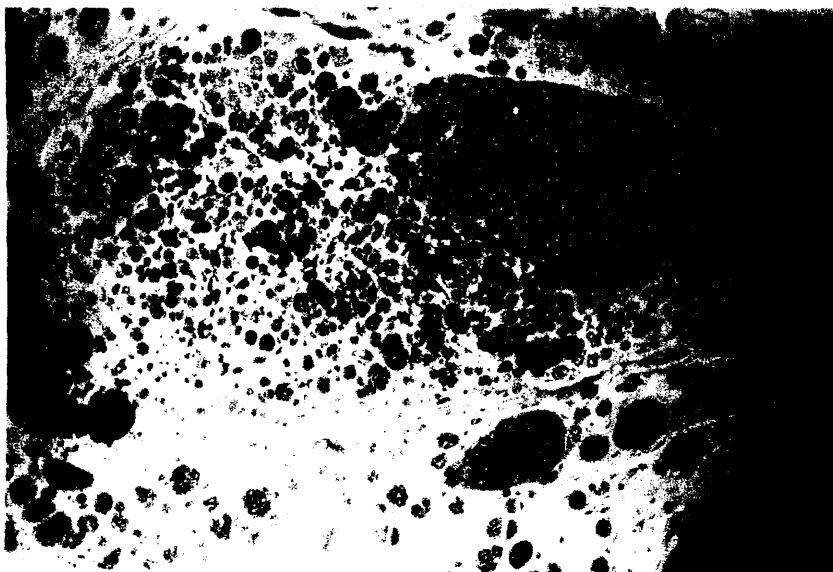


- Segmento distal: Abundancia de agrupamientos axonales de pequeño tamaño, con apariencia densa de fibras nerviosas.

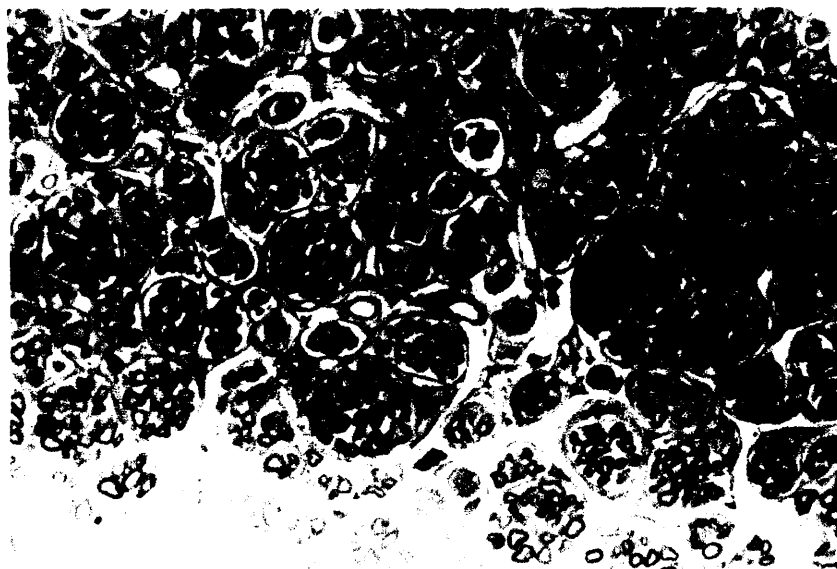


Nervio G.4.5.

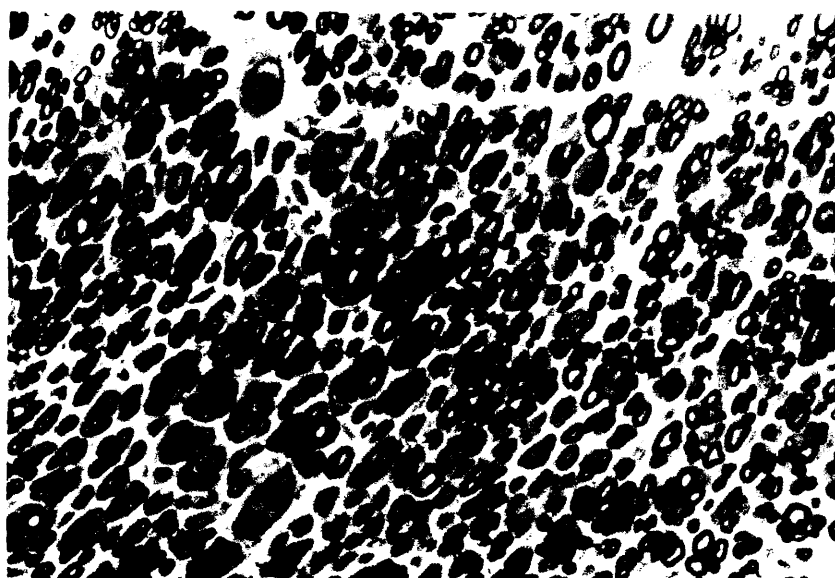
- Segmento intermedio: Desestructuración del perineuro, con salida de abundantes fascículos al tejido muscular colindante, estos fascículos se encuentran separados por tabiques conjuntivos.



A mayor aumento se aprecian mejor estos tabiques.



- Segmento distal: Abundantes agrupamientos de axones, que dan una apariencia densa al fondo, escasos restos mielínicos, con alguna célula xantomatosa dispersa. Buena mielinización y regeneración global.



A continuación y para evitar subjetividad en el estudio, realizaremos un breve estudio semicuantitativo.

Como hemos nombrado en el apartado de MATERIAL Y METODOS, este estudio semicuantitativo en ciego se basa en asignar en cada injerto un valor subjetivo, pero hecho a ciegas, sin saber en ningún momento de que nervio se trata.

El valor asignado al nervio se calcula asignando al mismo una calificación en un sistema de cruces ó numérico de 1 a 4 a una serie de ocho parámetros, tanto en el segmento intermedio como en el distal rechazando el proximal al tener en todos los casos una estructura normal, siendo esto lógico, pues es el menos afectado por la degeneración.

Los datos valorados fueron:

- 1- Ausencia de cuerpos de mielina.
- 2- " células xantomatosa.
- 3- Agrupamientos axonales regenerativos.
- 4- Densidad de fibras.
- 5- Grosor de fibras.
- 6- Regularidad de fibras.
- 7- Mielinización.
- 8- Pérdida de la estructura y formación de

microfascículos.

Así pues, a cada dato se le asigna un valor numérico de 1 a 4. Posteriormente calculamos el valor suma de cada nervio, realizando posteriormente la media de cada grupo, tanto a nivel intermedio como distal.

A continuación se añaden las tablas indicando los resultados obtenidos.

GRUPO 1. : Segmento intermedio

	G-1.1	G- 1.2	G- 1.3	G- 1.4	G- 1.5
Cuerpos de mielina...	3	2	1	2	1
Células - antomatosas.	2	4	2	2	3
Agrupación axial.....	2	3	3	3	3
Densidad.....	3	3	3	2	1
Grosor	3	3	4	2	2
Regularidad...	3	2	2	3	2
Mielinización.	3	3	3	3	3
Desestructura- ción y Micro- fasci.	3	3	4	3	3
TOTALES.....	22	24	21	20	13

GRUPO 2. : Segmento intermedio.

	G- 2.1	G- 2.2	G- 2.3	G- 2.4	G- 2.5
Cuerpos de mielina...	2	4	4	3	1
Células - antomatosas.	4	2	4	2	1
Agrupación axibal.....	3	3	3	2	2
Densidad.....	3	2	2	3	3
Grosor	3	2	2	3	2
Regularidad...	3	3	2	3	2
Mielinización.	3	3	4	3	3
Desestructura- ción y Micro- fasci.	3	3	3	1	3
TOTALES.....	24	22	25	19	17

GRUPO 3. : Segmento intermedio.

	G- 3,1	G- 3,2	G- 3,3	G- 3,4	G- 3,5
Cuerpos de mielina...	3	1	3	2	4
Células - antomatosas.	3	2	3	2	3
Agrupación axibal.....	3	4	3	3	2
Densidad.....	2	3	2	3	4
Grosor	3	3	2	4	4
Regularidad...	2	2	2	2	3
Mielinización.	3	3	2	4	3
Desestructura- ción y Micro- fasci.	2	4	2	4	4
TOTALES.....	21	22	19	25	27

GRUPO 4. : Segmento intermedio.

	G- 4.1	G- 4.2	G- 4.3	G- 4.4	G- 4.5
Cuerpos de mielina...	3	3	4	2	4
Células - xantomatosas.	3	2	2	3	3
Agrupación axonal.....	3	3	3	3	3
Densidad.....	2	3	3	1	3
Grosor	2	3	3	3	2
Regularidad...	1	2	3	1	2
Mielinización.	2	4	3	3	3
Desestructuración y Microfasci.	2	3	4	2	1
TOTALES.....	13	23	25	13	20

GRUPO 1. : Segmento distal

	G- 1.1	G- 1.2	G- 1.3	G- 1.4	G- 1.5
Cueros de mielina...	3	3	3	3	3
Células - antomatosas.	2	2	2	1	3
Agrupación axibal.....	3	2	3	2	3
Densidad.....	1	2	4	3	3
Grosor	2	3	3	3	3
Regularidad...	2	2	3	3	3
Mielinización.	3	3	4	4	3
Desestructura- ción y Micro- fasci.	3	4	4	4	4
TOTALES.....	19	21	26	23	25

GRUPO 2 : Segmento distal

	G- 2.1	G- 2.2	G- 2.3	G- 2.4	G- 2.5
Cuerpos de mielina...	4	2	4	-	3
Células - antomatosas.	3	2	3	-	1
Agrupación axibal.....	3	2	3	-	2
Densidad.....	3	2	3	-	2
Grosor	2	2	2	-	2
Regularidad...	3	2	2	-	2
Mielinización.	3	3	3	-	3
Desestructura- ción y Micro- fasci.	4	4	4	-	4
TOTALES.....	25	19	24	-	19

- G- 2.4 No valorable.

GRUPO 3 : Segmento distal

	G- 3.1	G- 3.2	G- 3.3	G- 3.4	G- 3.5
Cuerpos de mielina...	2	-	2	3	4
Células - antomatosas.	2	-	3	1	3
Agrupación axibal.....	3	-	3	2	2
Densidad.....	4	-	3	3	2
Grosor	3	-	3	3	2
Regularidad...	3	-	3	3	1
Mielinización.	3	-	4	4	3
Desestructura- ción y Micro- fasci.	2	-	4	4	2
TOTALES.....	22	-	25	23	10

- G- 3.2 No valorable.

GRUPO 4 : Segmento distal

	G- 4.1	G- 4.2	G- 4.3	G- 4.4	G- 4.5
Cuerpos de mielina...	-	4	3	3	1
Células - antomatosas.	-	3	1	2	3
Agrupación axial.....	-	2	3	4	2
Densidad.....	-	2	2	3	2
Grosor	-	2	2	3	2
Regularidad...	-	2	2	3	3
Mielinización.	-	3	3	3	4
Desestructura- ción y Micro- fasci.	-	2	4	4	3
TOTALES.....	-	20	20	25	20

- G-4.1 no valorable.

Las tablas anteriores muestran los valores asignados a cada nervio para los parámetros estudiados. también incluye el valor total asignado al nervio, resultado de la suma de todos los valores parciales asignados.

Mediante la suma de los valores totales de cada nervio del grupo y su división por el número de muestras, excepto los reseñados como "no valorable" por presentar insuficiente tinción, por no visualizarse el nervio ó por no poder evaluar algún dato (los nervios "no valorables" son: G.2.4.distal; G.3.2.distal; G.4.1.distal), calculamos los valores maedios de cada grupo como sigue.

SEGMENTO INTERMEDIO

-G.1.....	23,2
-G.2.....	21,4
-G.3.....	22,8
-G.4.....	20,8

SEGMENTO DISTAL

-G.1.....	22,8
-G.2.....	21,75
-G.3.....	22,25
-G.4.....	21,25

Recordamos que la valoración de datos aislados se ha realizado entre 1 y 4 y al considerar ocho datos valorables nos permitiría obtener valores totales de cada nervio comprendidos entre 8 y 32. Los valores totales encontrados se localizan entre 21,4 y 23,2. Por lo que se deben considerar de un mismo orden.

DISCUSION

A continuación procedemos a discutir los resultados y las experiencias obtenidos a lo largo de este estudio.

Se ha ilustrado en el apartado de resultados que en todos los injertos se ha producido regeneración muy buena, siendo en algunos casos excelente. Todo ello junto con el hecho de la facil accesibilidad quirúrgica del nervio ciático de la rata, hacen de ella un excelente animal de experimentación. A esta serie de factores apuntados, debemos añadir la facilidad de manejo y crianza, así como la asequibilidad económica de la experimentación con estos animales.

Como hemos visto en las fotografías y en el texto de los resultados, parece ser que no se evidencian diferencias significativas entre los cuatro grupos, encontrandose los valores semicuantitativos en una misma franja.

El hecho de que esto se produzca se podría considerar debido a múltiples factores, unos de causa quirúrgica, otros por el tipo de animal utilizado.

Si consideramos las ideas de SINHG, 1.977 (136), a nivel teórico, se debería haber producido una menor regeneración en el grupo G.3., de injertos

heterólogos en fresco, que en el grupo G.4., de injertos heterólogos criopreservados. Esto no se produjo así.

Hemos visto que en el grupo G.2., homólogo criopreservado, se produce una regeneración muy buena, así como en el grupo G.1., injertos homólogos frescos, avalando las ideas de que era posible congelar un nervio y posteriormente trasplantarlo, siendo este viable, MARMOR, 1.964 (89).

No se aprecia, según lo observado, que en el grupo G.2. haya peor regeneración que en el G.1., ambos tienen gran cantidad de agrupaciones de pequeños axones bien mielinizados a nivel distal e intermedio (zona donde se situa el injerto), así mismo tampoco hay mayor cantidad de restos degenerativos en el segmento intermedio como podría en un principio esperarse si la congelación de los injertos G.2. produjera nervios inviables. Estos restos degenerativos son los cuerpos globoides de mielina y las células xantomatosas presentes en ambos de forma similar.

No obstante, si se muestra un pequeño valor inferior en los grupos congelados respecto de los frescos, probablemente causado por que la congelación pueda haber sido insuficientemente prolongada, pues algunos autores como antes hemos visto propugnan tiempos de congelación mayores de una semana, como hemos tratado de hacer en este estudio. La temperatura no debe ser el factor limitante, si consideramos buenas las ideas de HONG-CAI-DING, 1985 (60).

Volviendo a los grupos heterólogos, observamos análogas características entre sí a los grupos homólogos, salvo una valoración semicuantitativa ligeramente inferior, aunque despreciable.

La técnica que hemos realizado es con ratas Wistar en los grupos homólogos, por tanto en ellos no habrá ninguna diferencia de histocompatibilidad entre sí; en los grupos heterólogos, hemos utilizado las ratas Wistar como donantes del injerto y como receptores las ratas Fischer, cuyo umbral de histocompatibilidad respecto de las Wistar es muy próximo, esto quiere decir, que las diferencias entre ellas son mínimas, según BAIMBRIDGE, 1.966 (11), como se puede evidenciar al realizar una comparación entre los grupos G.1. y G.3., de forma que no se encuentra un peor resultado regenerativo a nivel del grupo heterólogo, como podría esperarse si sus diferencias de histocompatibilidad fueran mayores, como sucedería si utilizáramos ratas B.N. (Brown Norway), de mayor diferencia de histocompatibilidad respecto de las dos anteriores. A continuación haremos una salvedad en este aspecto inmunológico en cuanto al estudio microscópico.

Esta salvedad se refiere, como después comentaremos, a que en el estudio histológico se ha realizado la tinción con la técnica del osmio, que nos permite ver la mielina, pero en cambio, no podemos ver o lo hacemos muy mal el tejido conjuntivo y la fibrosis, por ello no es posible valorar la reacción inflamatoria

del rechazo.

Para poder valorar adecuadamente en este estudio la teoría de SINGH, 1.977 (136), sobre la disminución de la antigenicidad del injerto mediante la congelación, precisamos que este injerto se realice entre dos especies de diferente grado de histocompatibilidad, condición que no se da o lo hace muy poco en caso de ratas Wistar y Fischer. Por ello puede ser interesante intentar utilizar ratas B.N., de mayor diferencia de histocompatibilidad, para que de esta forma se puedan obtener resultados mas significativos en cuanto a diferencia de regeneración, punto que hemos abordado en este estudio, entre los grupos de trasplantes homólogos y heterólogos.

SANDERS y YOUNG, 1.942 (126), manifestaron la posibilidad de utilizar injertos cuando se unen una prevención de la reacción inmunológica, pues ésta produce la inflamación y posterior rotura de los vasos a nivel del trasplante. La prevención de esta reacción, como se ha indicado previamente, puede hacerse a nivel del huesped con inmunosopresores, o tambien a nivel del injerto realizando una predegeneración, según propugnaban TELLO, 1.911 (147), CAJAL, 1.928 (28) ó BENTLEY, 1.936 (17). Debido a que el antígeno se situa a nivel de la mielina en el nervio periférico, DAS GUPTA, 1.967 (35), el proceso de degeneración antes mencionado busca que se elimine la mayor cantidad posible del antígeno (proteína básica de mielina) antes de que intenten regenerar los axones seccionados, puesto que el

esqueleto conjuntivo se mantiene tras la congelación.

Este proceso de predegeneración congelando el nervio, en nuestro estudio no se ha mostrado mas eficaz que el injerto en fresco, en esto se puede afirmar que los resultados son similares a los obtenidos por ZALEWSKI y GULATI, 1.982 (170), que utilizando ratas en lugar de perros (como hizo SINGH) y congelando los injertos, obtuvieron que la congelación no era capaz de producir inmunotolerancia. Si bien es cierto que en nuestro estudio la regeneración fue correcta en todos los casos, debido como antes se ha dicho, a que la histocompatibilidad era muy similar entre las dos cepas de ratas utilizadas.

La técnica de tinción histológica empleada, como se ha dicho antes, es la del osmio, que no es en absoluto utilizable para visualizar el tejido conjuntivo y los vasos, y mucho menos para el rechazo inmunológico, basándonos para comprobar la viabilidad del injerto en el estudio de la posterior regeneración y mielinización.

En cuanto a la técnica quirúrgica, podemos hablar de varios apartados.

SUNDERLAND, 1.978 (139), afirmaba que la disposición de las fibras en el sentido longitudinal del nervio se realizaba de forma plexiforme, con abundantes entrecruzamientos entre ellas. Así mismo, LAVARACK, afirmaba que a nivel distal las fibras son mas finas

porque se van ramificando a lo largo de su recorrido, tal como había afirmado SUNDERLAND, por ello cuando hemos seccionado un nervio y pretendemos interponer un injerto con sutura epineural, nos encontramos que no es posible afrontar exactamente los fascículos de nervio e injerto, por lo que sería mas útil interponer injertos fasciculares. Pero en el caso de nuestro experimento ello no resulta posible habida cuenta del pequeño tamaño del nervio de la rata. En este nervio de un grosor aproximado de 1 a 1,5 mm. no se pueden individualizar con un microscopio operatorio de 7,5 aumentos, los fascículos de que consta el nervio, por lo que, aun a sabiendas de que el método de sutura epineural no es el mas adecuado metodológicamente, debemos realizarlo en este caso.

Al realizar la sutura epineural, tenemos que fijar el nervio con seis puntos; al tener un epineuro muy fino y laxo, estos puntos epineurales desgarrarían el mismo, por ello, tenemos que realizar, como indican algunos autores una sutura epineural-perineural, lo que condiciona los resultados obtenidos histológicamente de desestructuración del nervio al fragmentarse el perineuro.

Esta fragmentación perineural, indudablemente se debe a la técnica de sutura, lo que no es posible valorar con este estudio es si esta fragmentación se debe a el factor traumatismo que supone la presencia del hilo de sutura o de el desgarró por la aguja, o se debe

a un factor inflamatorio, como se evidencia en algunas preparaciones que muestran una zona de rotura de perineuro, con salida de microfascículos axonales, justo al lado de una zona donde se sitúa una reacción inflamatoria de célula gigante de cuerpo extraño que engloba a un punto de sutura no reabsorvido.

El hecho de que no se reabsorva el punto se debe a la naturaleza del hilo, que es de nylon con un grosor de 10/0, sutura que se ha considerado por muchos autores como la mas adecuada para este tipo de intervenciones, según SUNDERLAND, 1.950 (143), aun a sabiendas del factor negativo que representa el hecho de no ser reabsorvable, YAMASAKI y NOMA, 1.983 (162). El efecto irritatorio que supone el punto situado en el perineuro y en ocasiones dentro del fascículo, puede ser, independientemente del efecto traumático, un factor causante de la desestructuración fascicular.

Por ello puede resultar aconsejable el empleo de técnicas que evitan la sutura con este tipo de material, pudiendo emplear sustancias como el fibrinógeno impregnado de trombina, como hizo SINGER en 1.945. VARA, 1.976 (155), empleaba un pegamento especial hecho con cianoacrilato. En la actualidad existen una serie de sustancias a base de fibrinas sintéticas, muchas de ellas en experimentación, que podrian representar en el futuro el material de elección para la coaptación de los nervios en este tipo de técnicas, evitando el efecto del hilo.

Tambien es posible la utilización de suturas reabsorvibles, como el ácido poliglicólico, YAMASAKI y NOMA, 1.983 (162).

Para SUNDERLAND, 1.965 (140), la función del perineuro consiste en mantener el soporte de los fascículos con una cierta presión en su interior, lo que facilita el flujo axoplásmico de CAJAL. Es por ello, que al romperse el perineuro, la presión a que está sometido el interior del fascículo hace que su contenido salga a través de esa solución de continuidad. Como además al existir traumatismo existe inflamación y por tanto edema, este contenido se prolapsa con mayor facilidad.

El contenido prolapsado, al situarse en la zona de regeneración máxima, no es otro que las yemas axonales en crecimiento. De ellas, algunas llegaron a encontrarse con los cordones de Bungner, en nuestro caso se ha observado que la proporción de ellas que lo conseguían era relativamente alta, puesto que en general se observaba a nivel distal de los injertos que la regeneración era muy buena en todos los casos, tanto singénicos como asingénicos, con alta densidad de fibras formando agrupaciones regenerativas y mielinización muy amplia.

Así pues, aunque no se observen diferencias entre los grupos estudiados, la regeneración en general, según se ha mencionado, resulta óptima, con lo que parece ser, que la técnica empleada es correcta,

independientemente de los resultados obtenidos en algunos fascículos desestructurados.

Los resultados obtenidos resultan contradictorios en comparación con algunos autores, probablemente debido a los factores antes mencionados. Por ello creemos que puede resultar recomendable en el futuro tratar de encontrar una solución a estos puntos.

A largo plazo, se podría establecer una diferenciación entre los resultados reales obtenidos con las diferentes técnicas, para ello emplearemos diferentes caminos de investigación.

Como animal de experimentación, en la rata hemos obtenido resultados regenerativos muy adecuados, por lo que pensamos, de acuerdo con algunos autores, como Vaquero, 1988, (155), que la rata es un animal idóneo para realizar este tipo de estudios experimentales. No obstante, en un futuro es posible tratar de repetir las experiencias de injertos nerviosos en animales de mayor tamaño.

Las ratas empleadas poseen un grupo de histocompatibilidad, como se ha señalado, muy similar. Por esta razón tenemos que tratar de aumentar las diferencias existentes entre los grupos, para ello debemos comprobar que se produce un rechazo real al nervio en algunos grupos, lo cual es posible obtenerlo utilizando ratas de cepas con umbral de histocompatibilidad mas variado, como puede ser la rata

B.N. (Brown Norway) .

Se debe realizar una investigación bibliográfica y en su caso experimental de nuevos materiales y técnicas quirúrgicas que puedan obviar el problema que supone la alteración en la continuidad del perineuro. En caso de esto no ser posible se tratará de buscar un factor corrector que solvente estos problemas y nos permita valorar de forma adecuada la regeneración en el segmento distal al injerto, independientemente del daño del perineuro.

Sin salirnos del hilo de lo anteriormente expuesto, los estudios realizados mediante criopreservación se muestran muy favorables, por lo que no se debe abandonar esta posibilidad y tratar de hacerla mas operativa en un futuro.

Pasando al campo histológico, puede ser útil un estudio más amplio en cuanto a numero de muestras y en cuanto a variación cronológica, realizando estudios seriados a lo largo del tiempo que permitan valorar la evolución de la respuesta del animal a nivel local tras la interposición del injerto en una sección nerviosa.

La evaluación histológica de la respuesta del animal huesped ante la interposición de un injerto nervioso se estudiará con diferentes técnicas microscópicas, utilizando mayor variedad de tinciones que busquen una reacción no solo nerviosa, sino tambien vascular, inflamatoria y conjuntiva, asi como, si

resulta pertinente, tratar de realizar estudios inmunohistoquímicos y cuantitativos morfométricos que amplíen de una forma exhaustiva la técnica descrita.

CONCLUSIONES

Por todo el texto que antecede podemos concluir que:

- I -

La rata es un animal de experimentación adecuado para el estudio de la regeneración nerviosa.

- II -

El desarrollo de la técnica microquirúrgica en este estudio ha demostrado ser un procedimiento altamente fiable para conseguir la regeneración nerviosa.

- III -

El procedimiento de criopreservación de nervios para su posterior trasplante se muestra adecuado para la posterior regeneración del nervio sin alteraciones.

- IV -

La técnica histológica de fijación y tinción con osmio se demuestra útil para el estudio de la regeneración en injertos nerviosos.

- V -

No se observan diferencias evidentes en los resultados de regeneración entre los trasplantes homólogos y heterólogos en las cepas de rata utilizadas.

- VI -

El método de sutura epineural en nervio ciático de rata plantea problemas al desestructurar los fascículos.

- VII -

La técnica de criopreservación no se muestra mas favorable que el trasplante en fresco para la regeneración en el nervio injertado.

- VIII -

Las técnicas de microcirugía del nervio periférico ofrecen un campo de investigación abierto.

BIBLIOGRAFIA

1.) AFANASIEF, A.: Premieres resultats du 20 homografes du nerfs conserves par le Cialit. La Pres. Med. 1967, 27: 1409 - 1410.

2.) AGUAYO, A.J.: The xenogrphic graft model; in Gorio, A. Millesi, H. Mingrino, S. (eds): Postraumatic Peripheral Nerve Regeneration: Experimental Basis and Clinical Implications. New York, Raven press. 1981. 361 - 363.

3.) AGUAYO, A.J. and BRAY, G.M.: Experimental nerve grafts. in Jewett, D.L.; McCarroll, H.R. Jr (eds): Nerve Repair and Regeneration. St. Louis, CV Mosby. 1980 68 - 85.

4.) AGUAYO, A.J.; EPPS, J.; CHARRON, L.: Multipotentiality of Schwann cells in cross-anastomosed and unmyelinated nerves: Quantitattional microscopy and radioautography. Brain Res., 1976, 104. 1.

5.) AGUAYO, A.J.; KASARJIAN, J.; SKAMENE, E.; KONGSHAVN, P. and BRAY, G.M.: Myelinitation of mouse axons by Schwann cells transplanted from normal and abnormal human nerves. Nature, 1977, 268: 753 - 758.

6.) ALBERT, E.: Berichte der naturwissenschaft-Medizininischen in Insbruck. Vol 9, Insbruck, 1878. 97.

7.) ALBERT, E.: Nerven transplantation. Wein. Med. Presse, 1885, 26: 1285.

8.) ALMGREN, K.G.: Revascularization of free peripheral nerve grafts. An Experimental study in the rabbit. Acta Orthop. Scand. 1974, Supp.: 154

9.) ANONIMO.: The Harvard Bioscience Whole rat catalog. Harvard Bioscience.

10.) ASBURY, A.K. and JOHNSON, P.C.: Pathology of peripheral nerve. W.B. Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto. 1978: 2 - 71.

11.) BAIMBRIDGE, D.R. and GOWLAND, G.: Detection of homograft sensitivity in mice by the elimination of chromium-51 labeled lymph node cells. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1966, 129: 257.

12.) BALLANCE, D.R. and DUEL, A.B.: The operative treatment of facial palsy by the introduction of nerve grafts into the Fallopian canal and by other intratemporal methods. Arch. Otolaryngol., 1932, 15: 1 - 70

13.) BARNES, R.: A study of nerve homografts in man. Br. J. Surg., 1945, 34: 34 - 41.

14.) BARNES, R.; BACSICH, P. and WYBURN, G.M.: A study of the fate of nerve homografts in man. Br. J. Surg., 1946, 34: 34.

15.) BARONE, R.: Atlas D'Anatomie du lapin. Masson & Cie. Ed. Paris. 1983.

16.) BECKER, C.M. ; GUEUNIG, C.O. and GRAFF, G.L.: Nerve and muscle regeneration after axonal division in rats treated with isaxone phosphate (Isopropylamino 2-pyrimidine phosphate).

17.) BENTLEY, F.H. and HILL, M.: Experimental surgery. Nerve grafting. Br. J. Surg. 1976, 24: 368-387.

18.) BICHMAN, R.: Atlas of mouse brain and spinal cord. Harvard University Press, 1971.

19.) BLACKWOOD, W. and HOLMES, W.: Histopathology of nerve injury. In: Seddon, H.J. (eds): Medical Research Council on Pheripheral Nerve Injuries. London, Her Majesty's Stationary Office, Special Report No. 88, 1955: 155.

20.) BONNEL, F.: Structure fasciculaire des nerfs peripherques. Neurochirurgie. 1982, 28: 71-76.

21.) BOYES, J.H.: Importance of nerve function in the upper extremity. Chapter 1 en "Hand Surgery"., de Bunnel, (eds) pppphiladelphia Lippincott, 1964.

22.) BRADLEY, W.G. and ASBURY, A.K.: Duration of synthesis phase in neurilemma cells in mouse sciatic nerve during degeneration. Exp. Neurol., 1970, 26:

275-282.

23.) BREIDENBACH, W. and TERZIS, J.K.: The Anatomy of free vascularized nerve grafts. Clin. Plast. Surg., 1984, 11: 65.

24.) BRUNELLI, G.: Long term results of nerve sutures and grafts. Microsurg., 1979, 1: 27-31.

25.) BUCH, V.I.: Experimental study of radiated vs. fresh nerve homografts. Plast. Reconst. Surg., 1970, 45: 586-594.

26.) BUCKO, C.D. and STEINMULLER, D.: Reinnervation after orthotopic grafting of nerve segments in inbred rats. Plast. Reconstr. Surg., 1974, 53: 326.

27.) BUNNELL, S. and BOYES, J.H.: Nerve grafts. Am. J. Surg., 1939, 44: 64-75.

28.) CAJAL, R. Y: Degeneration and regeneration of the nervous system. R.M. May (Trans.ed), New York, Hafner Publishing Co. Vol. 1, 1928: 361.

29.) CAMPBELL, J.B.; BASSET, A.L. and BOHLER, J.: Frozen irradiated homografts shields with microfilter sheaths in peripheral nerve surgery. J. Trauma, 1963, 3: 303-311.

30.) CAMPBELL, J.B.; BASSETT, C.A.L. and NIELSEN, K.C.: Frozen-irradiated peripheral nerve

homografts: a preliminary report of successful employment in neurorrhaphy. Acta Neur. Scand.

31.) CARSON, F.L.; MARTIN, J.M. and LYNN, J.A.: Formalin fixation for E.M. Am. J. Clin. Path., 1973, 59: 365-373.

32.) CASANOVA, P.: Techniques de coloration des tissus osmies et inclus dans l'avalanche ou l'épou. A. Anat. Pat., 1974, 19: 231-243.

33.) CROCK, H.V. and YOSHIZAWA, H.: The blood supply of the vertebral column and spinal cord in man. Springer Verlag. New York, Wien, 1977, 26 - 27.

34.) CRUZ, N.I.; DEBS, N. and FIOL, R.E.: Evaluation of fibrin glue in rat sciatic nerve repairs. Plast. Reconst. Surg., 1986, 78: 369-373.

35.) DAS GUPTA, T.K.: Mechanism of rejection of peripheral nerve allografts. Surg Gyn Obstet., 1967, 125: 1058-1068.

36.) DAVIS, L.; PERRET, G. and CARROLL, W.: Surgical principles underlying the use of grafts in the repair of peripheral nerve injuries. Ann. Surg. 1945, 121: 686-699.

37.) DAVIS, L. and RUGE, D.: Functional recovery following the use of homogenous nerve grafts. Surgery, 1950, 27: 102-114.

38.) DICK, P.J. and HOPKINS, A.P. : Electron microscopic observations on degeneration and regeneration of unmyelinated fibers. Brain, 1972, 95: 233-240.

39.) DUCKER, B. and HAYES, C.J. :Peripheral nerves grafts: Experimental studies in the dog and chimpanzee to define homograft limitations. J. Neurosurg. , 1970, 31 : 236-243.

40.) DUEL, A.B. : The surgical repair of facial nerve paralyses. A clinical presentation. Ann. Otol. Rhinol. Laringol. , 1936 , 45 : 3-6.

41.) DURAN, H. :Tratado de patología y clínica quirúrgica. Ed. Interamericana, 1983.

42.) EDEN, R. : Die freie Transplantation der peripheren Nerven zum ersatz von Nervendefekten. Arch. Klin. Chir., 1919, 112: 471-512.

43.) EDIDIN, M. : The tissue distribution and cellular location of transplantation antigens. In Kahan, B.D., and Reinsfeld, R.a. (eds): Transplantation Antigens, Markers of Biological Individuality. New York, Academy Press, 1971: 125.

44.) ENGEL, J.; GANEL. a.; MELAMED, r. ET AL.: Choline acetyltransferase for differentiation between humanmotor and sensory nerve fibers. Ann. Plast. Surg.,

1979, 4: 376-380.

45.) ESTABILE-PUIG, J.F.; BAUER, W.C.; BLUMBERG, J.M. P.F.D.: Staining of osmium-Fixed, plastic embedded tissues for light and phase microscopy. J. Neuropath. Exp. Neurol., 1965, 24: 531-535.

46.) FISCHER, D.W.; BEGGS, J.L.; KENSHALD, D. L. and SHETLER, A.G.: Comparative study of microepineural anastomoses with the use of CO laser and suture techniques in rat sciatic nerve. (surgical technique nerve action potentials and morphological studies). Neurosurg., 1985, 17: 300-308.

47.) GOULD, R. P. and HOLT, S.J.: Observations on acid Phosphatase and Esterases in the rat sciatic nerve undergoing wallerian degeneration. Cytology of nervous tissue. Taylor and Francis, London. 1961: 45-56.

48.) GRUBER, H.: Identification of motor and sensory funiculi in cut and their selective reunion. Br. J. Plast.Surg., 1976, 29: 70-73.

49.) GUEGAN, Y. et PECKER, J.: Les greffes nerveuses. Etude experimentale interet du nombre de points de suture. Neurochir., 1979, 25: 232-238.

50.) GUTMENN, E. and SANDERS, F.K.: Functional recovery following nerve grafts and other types of nerve bridge. Brain. 1942, 88: 373-407.

51.) GYE, R.S.; HARGRAVE, J.C.; LOEWENTHAL, J.; McLEOD, J.G.; POLLARD, J.D. and BOOTH, G.,C.: The use of immunosuppressive agents in human nerve grafting. *Lancet*, 1972, 1: 647-650.

52.) HAKSTIAN, R.: Funicular orientation by direct stimulation. *J. Bone Surg.*, 1968, 50: 1178-1182.

53.) HAM, A.W.: *Histologia*. Ed. Interamericana. 1975. 7 ed.

54.) HASSLER, O.: Vascular reactions after nerve section suture and trasplantation. *Acta Neurol. Scand.*, 1969, 45: 335-341.

55.) HIRASAWA, Y. and MARMOR, L: The protective efect of irradiation combined with sheathing methods on experimental nerve neterografts. *J. Neurosurg.*, 1967, 27: 401-414.

56.) HIRASAWA, Y.; ODA, R.; NAKATANI, K. and NOJYO, Y.: Experimental study of the regeneration of sympathetic nerve fibers after nerve homografting. *Plast. Reconstr. Surg.*, 1974, 54: 671-675.

57.) HOEN, T.I.: The repair of peripheral nerves lesions. *Am. J. Surg.*, 1946, 72: 489-494.

58.) HÖLLANDER, H. and VAALAND, J.C.: A reliable staining method for semithin section in

experimental neuroanatomy. Brain Res., 1968, 10: 120-126.

59.) HOKLTZMAN, E. and NOVIKOFF, A.B.: Lysosomes in the rat sciatic nerve following crush. J. Cell. Biol., 1965, 27: 651-669.

60.) HONG-CAI DING, R-DOING WANG, TIAN-QUI MAO and PIN-QUIAD PENG.: Biologic effects of freezing on tissues of the maxillofacial region. J. Oral. Maxillofac. Surg., 1985, 43: 778-781.

61.) HUBER, G.C.: Transplantation of peripheral nerves. Arch. Neurol. Psychiatry, 1969, 2: 466-480.

62.) HUDSON, A.R.; MORRIS, J. and WEDDELL, G.: Peripheral nerve autografts. J. Surg. Res., 1973, 12: 267-274.

63.) IKEDA, K.: Successful peripheral nerve homotransplantation by use of high voltage electron irradiation. Arch. Japan Cgrr., 1966, 35: 679-705.

64.) JABALEY, M.E.; BURNS, J.E.; ORCUTT, B.S. et al.: Comparison of histologic and functional recovery for peripheral nerve repair. J. Hand Surg., 1976, 1: 119-130.

65.) JABALEY, M.E.; WALLACE, W.H. and HECKLER, R.H.: Internal topography of major nerves of the forearm and hand: A current view. J. Hand. Surg., 1980, 5: 1-18.

66.) JACOBSON, J. and SUAREZ, E.: Microsurgery in anastomoses of small vessels. Surg. Forum., 1960, 11: 243-256.

67.) JACOBY, W.; FAHLBUSCH, R.; MACKERT, B.: Transplantation Lyophilisierter homoioplastischer Nerven zur Überbrückung Peripherer Nervendefekte beim Menschen. Fortsch. Med. 1970, 88: 183-194.

68.) JACOBY, W.; FAHLBUSCH, R.; MACKERT, B.; BRAUN, B.; ROLLE, J. und SCHNELL, J.: Überbrückung peripherer Nervendefekte mit lyophilisierten und desantigenisierten homologen Transplantaten. Munch Med Wochenschr., 1970, 112: 586-589.

69.) JURECKA, W.; AMERER, H.P. and LASSMANN, H.: Regeneration of a transected peripheral nerve. An autoradiographic and electron microscopic study. Acta Neuropathol., 1975, 32: 299-312.

70.) KLEMME, R.M.; WOOLSEY, R.D. and DEREZENDE, R.T.: Autopsy nerve grafts in peripheral nerves surgery. J. Am. Med. Ass., 1943, 123: 393-399.

71.) KOSHIMA, L. and HARII, K.: Experimental study of vascularized nerve grafts: Morphometric study of axonal regeneration of nerves transplanted into silicone tubes. Ann. Plast. Surg., 1985, 14: 235.

72.) KOSHIMA, I. and HARII, R.: Experimental

study of vascularized nerve grafts: Multifactorial analyses of axonal regeneration of nerves transplanted into an acute burn wound. *J. Hand Surg.*, 1985, 10: 64-72.

73.) KUHLENDahl, H.; MUMENTHALER, M.; PENZHOLZ, H.; ROTTGEN, P.; SCHLIACK, H. and STRUOOLER, A.: The treatment of peripheral nerve injuries with homologous nerve grafts. *Acta Neurochir. (Wien)* 1972, 26: 339-344.

74.) LEVINThAL, R.; BROWN, W.J. and RAND, R.W.: Fascicular nerve allograft evaluation. Part 1: Comparison with autografts by light microscopy. *J. Neurosurg.*, 1978, 48: 423.

75.) LEWIS, H.P.; McLAURIN, R.L.: The application of tissue transplant technique to nerve grafting. *Surg. Forum.*, 1966, 17: 432-433.

76.) LUBINSKA, L.; NIEMIERKO, S.; ODERFELD-NOWAK, B. and SWARC, L.: Behavior of acetylcholinesterase in isolated nerve segments. *J. Neurochem.*, 1964, 11: 493-497.

77.) LUNDBORG, G. and RYDEVIK, B.: Effects of stretching the tibial nerve of the rabbit. A preliminary study of the intraneural circulation and the barrier function of the perineurium. *J. Bone Jt. Surg.*, 1973, 55: 390-401.

78.) LYONS,W.R.: Atlas of peripheral nerve injuries. Londson, Suanders, 1949.

79.) MACKINNON, S.E.; DELLON, A.L.; HUDSON, A.R. and HUNTER, D.A.: Nerve regeneration throught a pseudosynovial sheath in a primate model. Plast. Reconstr.Surg., 1985, 75: 833-839.

80.) MACKINNON,S.E.; HUDSON,A.R.; BAIN, J.R.; FALK,R.E. and HUNTER, D.A.: The peripheral nerve Allograft: An Assessment of Regeneration in the Inmuynosuppressed Host. Plast. Reconstr. Surg., 1987,79: 436-444.

81.) MACKINNON, S.E.; HUDSON, A.R.; FALK, R.; BILBAO, J.; KLINE, D. and HUNTER, D.: Nerve allograft response: A quantitative inmunological study. Neurosurgery, 1982,10: 61-84.

82.) MACKINNON, S.E.; HUDSON,A.R.; FALK, R.E. and HUNTER, D.A.: The herve allograft response: An experimental model in the rat. Ann. Past. , Surg., 1985, 14: 334.

83.) MACKINNON, S.E.; HUDSON, A.R.; FALK, R.E.; KLINE,D. and HUNTER, D.: Peripheral Nerve Allograft: An Assessment of Regeneration across Pretreated Nerve Allografts. Neurosurg., 1984, 15: 690-693.

84.) MACKINNON, S.E.; HUDSOIN,A.R.,FALK, R.E.;

KLINE, D. and HUNTER, D.: Peripheral nerve allograft: An immunological assessment of pretreatment methods. Neurosurgery, 1984, 14: 167-171.

85.) MAJNO, G. and KARNOVSKY, M.L.: A biochemical and morphologic study of myelination and demyelination.II. Lipogdenesis in vitro by rat nerves following transection. J. Exp.Med., 1958, 108: 197-205.

86.) MARMOR, L.: Peripheral nerve graft.Clin Neurosurg., 1970, 17: 126-141.

87.) MARMOR,L.: Peripheral Nerve Regeneration Using Nerve Graft.Springfield, III. Charles C. Thomas Publisher, 1967.

88.) MARMOR,L.: Regeneration of peripheral nerves by irradiated homografts. J Bone Surg., 1964, 46-A: 383-394.

89.) MARMOR, L.: The repair of peripheral nerves by irradiated homografts.J. Bone & Joint Surg.,1964, 46A: 383.394.

90.) MARMOR,L.: Regeneration of peripheral nerve defects by irradiated homografts. Lancet, 1963, 1: 1191-1192.

91.) MARMOR,L.; FOSTER, J.M.; CARLSON,G.J. and ARPELS,J.C.: Experimental Irradiated Nerve Heterografts. 656-666.

92.) MARMOR, L. and HIRASAWA, Y.: Further studies of irradiated nerve heterografts in animals with Immuran immunosuppression. J. Trauma. 1968, 8: 32.

93.) MARMOR, L.; MINER, R. and FOSTER, J.: Experimental prevention of nerve homograft rejection by use of immunosuppressive drugs. J. Neurosurg., 1967, 27: 415.

94.) McLEOD, J.G. and PENNY, R.J.: Vincristine neuropathy; a report of an electrophysiological and histological study. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat., 1969, 32: 297.

95.) MILLESI, H.: Discussion: The use of fresh of preserved allografts. in Gorio A., Millesi, H., Mingrino, S. (eds): Posttraumatic Peripheral Nerve Regeneration: Experimental Basis and Clinical Implications. New York, Raven Press, 1981, p 368.

96.) MILLESI, H.: Interfascicular nerve grafting. Orthopedic Clin. North America. 1981, 12: 287-301.

97.) MILLESI, H.: Nerve grafting. Clin. Plast. Surg., 1984, 11: 105-113.

98.) MILLESI, H.; MEISSL, G. and BERGER, A.: The interfascicular nerve-grafting of the median and ulnar nerves. J. Bone Joint Surg., 1972, 54 A: 727-750.

99.) MIRA, J.W.: Effects of repeated experimental localized freezings in the distal stump of peripheral nerve. Clin. Plast. Surg., 1984, 11: 17-15.

100.) MIYAMOTO, Y.: Experimental study of results of nerve suture under tension Vs. Nerve grafting. Plast. reconstr. Surg., 1979, 64: 540-549.

101.) MORGAN-HUGHES, J.A. and ENGEL, W.K.: Structural and histochemical changes in the axons following nerve crush. Arch. Neurol., 1968, 19: 598-607.

102.) MORRIS, J.J.; HUDSON, A.R. and WEDDELL, G.: A study of degeneration and regeneration in the divided rat sciatic nerve based on electron microscopy. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., 1972, 124: 76-203.

103.) NAGEOTTE, J.: Sur la greffe des tissus morts et en particulier sur la réparation des pertes de substances des nerfs à l'aide de greffons nerveux conservés dans l'alcool. C.R. Seanc. Soc. Biol., 1917, 80: 459-463.

104.) NAKATSUCHI, Y. MATSUI, T. and HANDA, Y.: Funicular orientation by electrical stimulation and internal neurolysis in peripheral nerve suture. Hand, 1980, 12: 65-73.

105.) NESBITT, J.A. and ACLAND, R.D.: Histopathological changes following removal of the

perineurium. J. Neurosurg., 1980,53: 233-238.

106.) NIGST, H.: Freie Nerventransplantation und Cortison. Basel,Stuttgart,Benno Schwabe & Company, 1957.

107.) OHNISHI, A.; O'BRIEN, P.C.; DYCK,P.J.: Studies to improve fixation of human nerves.II. Effect of time elapsea between death and glutharaldehice fixation on relationshipo of axonal area to number of myelin lamellae.J. Neurol. Sci., 1974, 23: 387-390.

108.) OHNISHI, A.; OFFORD, K.; DYCK,P.J.: Estudios to improve fixation of human nerves. I., Effect of duration of glutaraldehyde fixation on peripheral nerve morphometry. J. Neurol. Sci., 1974, 23: 223-226.

109.) OLDS.: A colour atlas of the rat dissection. Wolf Medical Publication, 1979.

110.) OLLSZEWSKI, W.L.: C R C. Hand Book of Microsurgery. Vol. 1. 275-287. C.R.C. press Inc. 1981.

111.) PETERS, A.; PALAY,S.I. and WEBSTER, H.F.: The fine structure of the nervous sistem. The nervoud and supporting cells W.B. Saunders Co. POhiladelphia, 1976: 295-331.

112.) PHILIPEAUX, J.M. et VULPIAN, A.: Norte sur des essais de greffe d'an troncou de nerf lingual entre e les deux bouts du nerf hypogloise apres excision

d'un segment de ce dernier nerf. Arch. Physiol. norm. path., Par., 1870, 3: 618-620.

113.) POLLARD, J.D. and FITZPATRICK, L.: A comparison of the effects of irradiation and immunosuppressive agents through peripheral nerve allografts: An ultrastructural study. Acta Neuropath.

114.) POLLARD, J.D. and FITZPATRICK, L.; an ultrastructural comparison of peripheral nerve allografts and autografts. Acta Neuropath., 1973, 23: 166-180.

115.) POLLARD, J.D.; GYE, R.S. and McLEOD, J.G.: An assessment of immunosuppressive agents in experimental peripheral nerve transplantation. Surg Gyn Obstet., 1971, 132: 839-846.

116.) POLLARD, J.D.; McLEOD, J.G. and GYE, R.S.: Regeneration Through Peripheral Nerve Allografts. Arch. Neurol., 1973, 28: 31-37.

117.) ROBERTS, T.S.: A report upon the fate of the frozen irradiated allogenic nerve graft. Surg Forum. 1967, 28: 445-447.

118.) ROFES, S.; NAVARRO, C.; MONSERRAT, L. et RAMON, R.: Greffe nerveuse pre-existence " in situ " et greffe nerveuse fraiche. Rev. Chir. Orthop., 1982, 68: 291-297.

119.) ROSS, R.: Wound healing. Sci. Am., 1969, 220: 40-50.

120.) ROTH, C.D. and RICHARDSON, K.C.: Electron microscopical studies on axonal degeneration in the rat iris following ganglionectomy. Am. J. Anat., 1969, 124: 341-348.

121.) ROTSTEIN, L.E.; MAKOWKA, L.; FALK, R.E.; KIRBY, T.J.; NOSSAL, N. and FALK, J.A.: Selective immune stimulation during induction of allograft tolerance in the rat by radical immunosuppression. Transplantation, 1980, 30: 417.

122.) ROWETT, H.W.Q.: Guías de disección III: La rata. Ed. U ranlr.

123.) SAMII, M. and KAHL, R.L.: Klinische Resultate der autologen Nerven transplantation. Melsungen Medizinisch Mitteilungen, 1972, 46: 197-202.

124.) SAMII, M.; SCHARMANN, K.; SCHEINPFLUG, W. and WALLENBORN, R.: Experimental studies comparing grafting with autogenous and irradiated freeze dried homologous nerves. Proceedings of the German Society for Neurosurgery, 22na Annual Meeting Dusseldorf. November 14-17, Excerpta Medica: Amsterdam.

125.) SAMII, M. und SCHEINPFLUG, W.: Klinische, elektromyographische und quantitativ histologische Untersuchungen nach Nerven transplantation.

Acta Neurochir., 1974,30: 1 - 29.

126.) SANDERS, F.K. and YOUNG, J.Z.: The degeneration and reinnervation of grafted nerves. J. Anat., Lond., 1941, 76: 143-162.

127.) SARGENT, P. and GREENFIELD, D.J.: An experimental investigation of certain materials used for nervesuture. Brit. Med. J., 1919, 1 : 407-411.

128.) SCHULTZE, W.H.: Metodo para mielina. En romnis B. Guia formulario de técnica histológica. En Labor S.A. Barcelona. 11 Es. 1928.

129.) SECKEL, B.R.; RYAN, S.E.; SIMONS, J.E.; GAGNE, R.G. and WATKINS, E.: Vascularized versus Nonvascularized nerve Grafts: An Experimental Structural Comparison. Plast. Reconstr. Surg., 1986, 78: 211-220.

130.) SEDDON, H.J.: Nerve grafting. J. Bone Joint Surg. 1963, 45-B: 447-461.

131.) SEDDON, H.J. and HOLMES, W.: The late condition of nerve homografts in man. Surg. Gynec & Obst., 1949, 79: 342-351.

132.) SETTERGREN, C.R. and WOOD, M.B.: Comparison of blood flow in free vascularized versus nonvascularized nerve grafts. J. Reconstr. Microsurg., 1984, 1: 95.

133.) SHANTHAVEERPPA, T.R. and BOURNE, G.H.:
The perineural epithelium of sympathetic nerves and
ganglia and its relation to the pia arachnoid of the
central nervous system and perineural epithelium of the
peripheral nervous sistem. Zellforsch.Mikrosk. Anato.,
1964, 61: 742-753.

134.) SINGH, R.: Experience with allografts in
the surgery of peripheral nerves (Experimental study).
Acta Neurochir. 1976, 34: 195-201.

135.) SINGH, R. and DE LANGE, S.A.: Experience
with homologous lyophilised nerve grafts in the
treatment of peripheral nerve injuries. Acta Neurochir.,
1975, 32: 125-130.

136.) SINGH, R.; MECHELSE, K. and STEFANKO,
S.: Role of tissue typing on preserved nerve allograts
in dogs. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr., 1977, 40:
865-871.

137.) SPURLING, P.G.; LYONS, W.R.; WHITCOMB,
B.B. and WOODHALL, B.: The failure of whole fresh
homogenous nerve grafts in man. J. Neurosurg., 1945, 2:
79-101.

138.) STRANGE, F.G.: An operation for nerve
pedicle grafting. Preliminary communication. Br. J.
Surg., 1947, 34: 423-428.

139.) SUNDERLAND, S.: Nerves and nerve

injuries, ed.2. Edinburgh/London: Churchill Livingstone, 1978.

140.) SUNDERLAND, S.: The blood supply of the nerve in the upper limb in man. Archs.Neurol. Psychiat., 1945, 53: 91-115.

141.) SUNDERLAND, S.: The connective tissues of periopheral nerves. Brain. 1965, 88: 841-854.

142.) SUNDERLAND, S. and RAY, L.J.: Denervation changes in mammalian striated muscle. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 1947, 13: 159-163.

143.) SUNDERLAND, S. and SMITH, G.K.: The relative merits of various suture material for the repair of severed nerves. Aus. N.Z. J. Surg., 1950, 20: 85-89.

144.) TARLOV, I.M. and EOSTEIN, J.A.: Nerved grafts: the imporance of an adequate blood supply. J. Neurosurg., 1944, 2: 218. (1945, 2: 49).

145.) TAYLOR, H.I.: Nerve grafting with simultaneous microvascular reconstruction. Clin. Orthop., 1978, 133: 56.

146.) TAYLOR, G.I. and HAM, F.J.: The free vascularized nerve graft: A further experimental and clinical application of microvascular techniques. Plast. Reconstr. Surg., 1976, 57: 413-426.

147.) TELLO, J.F.: La influencia del neurotropismo en la regeneracion de los centros nerviosos. Trab. Lab. Inves. Biol. Univ.Madr., 1911, 9: 123-179.

148.) TERZIS, J.K.: Microreconstruction of nerve injuries. W.B. Saunders Company. Filadelfia. 1987.

149.) THOMAS, P.K.: Changes in the endoneural sheaths of peripheral myelinated nerve fibers during Wallerian degeneration. J. Anat., 1964, 98: 175-179.

150.) THOMAS, P.K.: The deposition of collange in relation to Schwann cell basement menbrane during peripheral nerve regeneration. J. Cell Biol., 1964, 23: 275-382.

151.) THOMASD, P.K. and KING, R.H.M.: The degeneration of unmyelinated eacons following nerve section: an ultrastructural study. J. Neurocytol., 1974, 3: 497-503.

152.) TOWNSEND, P.L.G. and TAYLOR,G.I.: Vascularized nerve grafts using compso tie arterialised neurovenous systems. Br. J. Plast. Surg., 1984, 37: 1.

153.) USON, J.; VILLAGRASA, F.J. y CALATAYUD, V.: Patología traumática de los nervios periféricos. Abordaje y técnicas microquirúrgicas. Zaragoza 1987.

154.) VAQUERO, C.: Manuel de microcirugía experimental en la rata. Ed. Univ. Valladolid, 1988.

155.) VARA, C.: Principios básicos de la neurorrafia. Cir. Esp., 1976, 30: 317-326.

156.) VARA, C.; VILLACORTA, J. y AGUIRRE, C.: Estudio experimental de nuevas técnicas de neurorrafía usando vainas de silicona. Cir. Esp., 1974, 28: 415-433.

157.) VERHOOG, B.D. and VAN BEKKUM, D.W.: Peripheral nerve allografts: Modification of allografts reaction using experimental model in rats. Transplnt. Proc., 1971, 3: 591.

158.) VILLAS, C.: Estudio experimental de la cascualización de los nervios periféricos. Tesis, Universidad de Navarra, 1980.

159.) WALLER, A.V.: Expiriments on the section of the glossopharyngeal and hypoglosal nerves of the frog, and observations of the alterations produced thereby in thwe structure of their primitive fibres. Phil. Trans. R. Soc. 1850, 423-429.

160.) WEBSTER, H. de F.: The relationship between Schmidt-Lantermann incisures and myelin segmentation during Wallerian degeneration. Ann.N.Y. Acad. Sci., 1965, 122: 29 - 38.

161.) WILLIAMS, H.B.: Communication: Fifth

International Symposium on microsurgery. Guaruja, May.
1979, 15 - 18.

162.) YAMAZAKI, Y. and NOMA, H.: Effect of the
perineurial vascular net on experimental grafting of the
inferior alveolar nerve. J. Oral. Maxillofac. Surg.,
1983, 41: 219-234.

163.) YOUNG, J.Z.; HOLMES, W. and SANDERS,
F.K.: Importance of the peripheral stump and the value
of nerve grafts. Lancet, 1940, 2: 128-130.

164.) YOUNG, J.Z. and MEDAWAR, P.B.: Fibrin
suture of peripheral nerves. Lancet. 1940, 2: 126-128.

165.) ZALEWSKI, A.A. and GULATI, A.K.:
Evaluation of histocompatibility as a factor in the
repair of nerve with a frozennerve allograft.
J.Neurosurg., 1982, 56: 550-554.

166.) ZALEWSKI, A.A. and GULATI, A.K.: Failure
of cycosporin A to induce immunological unresponsiveness
to nerve allografts. Axp. Neurol.,, 1984, 83: 659-663.

167.) ZALEWSKI, A.A. and GULATI, A.K.:
Rejection of nerve allografts after cessation of
immunosupression with cycloporin A. Tranzplantation.
1981, 31: 88 - 89.

168.) ZALEWSKI, A.A. and GULATI, A.K.: Survival
of nerve allografts in sensitized rats treated with

cyclosporin A. K. Neurosurg., 1984, 60: 828-834.

169.) ZALEWSKI, A.A. and GULATI, A.K.: Survival of nerve and Schwann cells in allografts after cyclosporin A treatment. Exp. Neurol., 1980, 70: 219-225.

170.) ZALEWSKI, A.A.; GULATI, A.K. and SILVERS, W.K.: Loss of host axons in nerve allografts after abolishing immunological tolerance in rats. Exp. Neurol., 1981, 72: 502.

171.) ZALEWSKI, A.A. and SILVERS, W.K.: An evaluation of nerve repair with nerve allografts in normal and immunologically tolerant rats. J. Neurosurg., 1980, 52: 557-563.

172.) ZALEWSKI, A.A.; SILVERS, W.K. and GULATI, A.K.: Failure of host axons to regenerate through a once successful but later rejected long nerve allograft. J. Comp. Neurol., 1982, 209: 347.